

精氨酸加压素对大鼠视前区 GABA_A 受体亚单位磷酸化的影响*

唐瑜^{1,2Δ}, 孙士林³, 尹双双³, 彭哲宇³, 曾宪刚¹, 姚姝婷³, 何钰婷³, 彭娜³
(成都医学院¹基础医学院, ²体温与炎症四川省高校重点实验室, ³检验医学院, 四川 成都 610500)

[摘要] 目的: 研究精氨酸加压素(AVP)对大鼠视前区γ-氨基丁酸(GABA)A型受体(GABA_A受体)亚单位(α、β和γ2)表达和磷酸化的影响。方法: 实验分为对照组、AVP组、V1a受体抑制剂+AVP组和V1a受体抑制剂组(均n=10);腹腔注射AVP或V1a受体抑制剂0.5h后,采用RT-qPCR和Western blot法检测视前区GABA_A受体亚单位(α、β和γ2)表达及磷酸化的变化。结果: 与对照组相比,AVP或V1a受体抑制剂组大鼠视前区GABA_A受体亚单位表达均无显著变化;AVP能显著上调视前区GABA_A受体γ2亚单位的磷酸化水平(P<0.05);AVP显著增加蛋白激酶C(PKC)和钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶II(CaMKII)表达和磷酸化(P<0.01)。结论: 外源性AVP不影响GABA_A受体亚单位(α、β和γ2)表达,但主要通过V1a受体激活PKC和CaMKII,影响γ2亚单位磷酸化水平,从而调制视前区GABA_A受体介导的抑制性突触传递。

[关键词] 视前区;精氨酸加压素;γ-氨基丁酸;蛋白激酶C;钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶II

[中图分类号] R338.1; R363.2 **[文献标志码]** A doi:10.3969/j.issn.1000-4718.2019.03.016

Effects of arginine vasopressin on subunit phosphorylation of GABA_A receptors in rat preoptic area

TANG Yu^{1,2}, SUN Shi-lin³, YIN Shuang-shuang³, PENG Zhe-yu³, ZENG Xian-gang¹, YAO Shu-ting³, HE Yu-ting³, PENG Na³

(¹School of Basic Medicine, ²Key Laboratory of Thermoregulation and Inflammation of Sichuan Higher Education Institutes, ³School of Medical Test, Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China. E-mail: yurenxiao3@netease.com)

[ABSTRACT] **AIM:** To investigate the effects of arginine vasopressin (AVP) on the expression and phosphorylation of γ-aminobutyric acid (GABA) subtype A receptor (GABA_A receptor) subunits in the preoptic area (POA) of rats. **METHODS:** The rats were divided into AVP group (n=10), AVP + V1a receptor blocker group (n=10), V1a receptor blocker group (n=10) and control group (n=10). After intraperitoneal injection of AVP or V1a receptor antagonist for 0.5 h, the changes of the expression and phosphorylation of POA GABA_A receptor subunits (α, β and γ2) were analyzed by RT-qPCR and Western blot. **RESULTS:** Compared with control group, no significant change of GABA_A receptor subunit expression in the rats injected with AVP or V1a receptor antagonist was observed. AVP up-regulated the phosphorylation level of POA GABA_A receptor γ2 subunit (P<0.05), and significantly increased the expression and phosphorylation of protein kinase C (PKC) and calcium/calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII). **CONCLUSION:** Exogenous AVP has no effect on expression of POA GABA_A receptor subunits (α, β and γ2) and is involved in modulation of GABAergic synaptic transmission in the POA by activation of PKC and CaMKII and phosphorylation of γ2 subunit via V1a receptor.

[KEY WORDS] Preoptic area; Arginine vasopressin; γ-Aminobutyric acid; Protein kinase C; Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II

精氨酸加压素(arginine vasopressin, AVP)作为一种内分泌九肽激素,在自主神经功能中发挥着重要作用,比如参与心血管活动调节和体温调节^[1]。AVP受体是G蛋白偶联受体,包括V1a、V1b和V2

[收稿日期] 2018-05-31 [修回日期] 2018-09-21

* [基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 31300962)

Δ 通讯作者 Tel: 028-62739305; E-mail: yurenxiao3@netease.com

共3种亚型,其中V1a受体激活磷脂酶C(phospholipase C, PLC)信号通路,引起细胞内钙离子浓度升高并激活蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)和钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶II(calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, CaMKII)^[2]。整体动物实验研究表明,外源性AVP会引起动物体温降低,而注射V1a受体抑制剂可升高体温^[3];其对体温的紧张性负调节作用可能与AVP改变视前区(preoptic area, POA)神经元放电活动和温度敏感性有关^[4]。

中枢控制体温调节反应涉及视前区神经元协调整合中枢和外周温度信号^[5]。皮肤感觉的冷/热信号分别传递到背根神经节后传入到脊髓后角。臂旁外侧核的外侧亚核(external lateral subnucleus of lateral parabrachial nucleus, LPBel)和背侧亚核(dorsal subnucleus of lateral parabrachial nucleus, LPBd)分别接受脊髓后角传来的冷和热信号^[6]。冷激活神经元从LPBel投射到正中视前核,然后通过这里分布的 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)能中间神经元再投射到内侧视前区,控制可以调节皮肤血管收缩、棕色脂肪组织代谢和战栗产热的热敏神经元^[7]。内侧视前区神经元接受GABA能突触传递的紧张性抑制,这可调制内侧视前区热敏神经元的放电活动和温度敏感性^[8]。激活外侧视前核的腹侧GABA能神经元可以降低体温,同时伴有大鼠活动度的减

少^[9]。最近我们发现,AVP差异性地调制视前区温度敏感和不敏感神经元的抑制性突触后电流^[10],但是具体作用机制尚不清楚。本实验应用RT-qPCR和Western blot法,探讨精氨酸加压素对大鼠视前区GABA_A受体亚单位(α 、 β 和 γ 2)表达和磷酸化的作用。

材 料 和 方 法

1 动物

应用SPF级健康雄性SD大鼠,体重200~250g(6~7周龄),由成都达硕实验动物有限公司提供,合格证号:SCXK(川)2015-030。在饲养时大鼠可自由进食和饮水,控制环境温度在24~26℃,相对湿度在60%~65%,保持12h昼/12h夜节律。

2 主要试剂

RNAlater和TRIzol(Invitrogen);DEPC(Sigma);PrimeScript RT reagent Kit(TaKaRa);FastStart Essential Probes Master(Roche);TEMED、RIPA裂解液和PMSF(上海碧云天生物技术有限公司);BCA蛋白含量检测试剂盒(江苏凯基生物技术股份有限公司);4×上样缓冲液(BIO-RAD);蛋白Marker(Thermo Fisher);ECL化学发光试剂盒(Millipore);荧光定量PCR探针(Roche),探针所匹配的特异引物由成都梓熙擎科生物技术公司合成,见表1;所用抗体及稀释浓度见表2。

表1 RT-qPCR探针及引物序列

Table 1. Sequences for primers and probes of RT-qPCR

Name		Sequence (5'-3')	Use UPL probe	Accession number
GABA _A receptor α 1 subunit	Forward	TGTCTTCACGAGGATTTTGGGA	#42	NM_183326.2
	Reverse	TCACTTCAGTTACACGCTCTCC		
GABA _A receptor α 2 subunit	Forward	GGTTTCCGCTGCTTGTCT	#20	NM_001135779.1
	Reverse	TTCTTGGATGTTAGCCAGCAC		
GABA _A receptor α 3 subunit	Forward	GGTCATGTTGTTGGGACAGA	#2	NM_017069.2
	Reverse	TCAGATGAAAGTGGGTTGTCA		
GABA _A receptor β 2 subunit	Forward	GGGTCTCCTTTTGGATCAACTA	#84	NM_012957.2
	Reverse	GGTCATCGTCAGGACAGTTGTA		
GABA _A receptor β 3 subunit	Forward	TCATGGGTGTCCTTCTGGAT	#84	NM_017065.1
	Reverse	ATGGTGAGCACGGTGTAAT		
GABA _A receptor γ 2 subunit	Forward	TGCTCACTGGATCAGGACTC	#89	NM_183327.1
	Reverse	GTAATTGCAACTGGCACTCG		
β -actin	Forward	CCCGCGAGTACAACCTTCT	#17	NM_031144.2
	Reverse	CGTCATCCATGGCGAACT		

UPL: Universal ProbeLibrary.

3 主要方法

3.1 实验分组、给药及取材 实验SD大鼠随机分为4组($n=10$),分别为对照(control)组(saline + saline)、AVP组(saline + AVP)、V1a受体抑制剂(V1a

receptor antagonist, V1a Anta) + AVP组和V1a受体抑制剂组(V1a Anta + saline)。每组动物均腹腔注射2次,第1次注射V1a受体抑制剂(30 μ g/kg)或等量的生理盐水,20 min后第2次注射AVP(10 μ g/kg)

表 2 抗体名称、稀释比和来源

Table 2. The names, dilution ratios and sources of the antibodies

Antibody name	Dilution	Company
GABA _A R α (1-6) (#sc-14005)	1:1 000	Santa
GABA _A R β (1-3) (#sc-28794)	1:1 000	Santa
GABA _A R γ 2 (#sc-101963)	1:1 000	Santa
p-GABA _A R γ 2 (S327) (#ab73183)	1:1 000	Abcom
PKC α (#2056)	1:1 000	CST
p-PKC (pan) (S660) (#9371)	1:1 000	CST
CaMK II (pan) (#4436)	1:1 000	CST
p-CaMK II (T286) (#12716)	1:1 000	CST
GAPDH (#ab181603)	1:5 000	Abcam
β -actin (#ab8227)	1:2 000	Abcam
HRP IgG (#ab6721)	1:5 000	Abcam

或等量的生理盐水,30 min 后腹腔注射 4% 戊巴比妥钠麻醉(1 mL/kg),快速断头处死。取脑组织放入冰水混合的人工脑脊液中,修块后用 502 胶将组织块固定在振动切片机上,切成 300 μ m 厚的水平下丘脑片,在体视显微镜下分离 POA 组织,放入 -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存备用,进行后续分子生物学实验。

3.2 RT-qPCR 实验 参照 TRIzol 试剂说明书严格操作,获得 RNA 样本后测定 RNA 浓度及纯度。电泳检测 RNA 完整性,可见明亮的 28S、18S 及较淡 5S 3 条带,无 DNA 污染条带。随后冰上制备 RT 反应体系,先去基因组 DNA,反应体系为:5 \times gDNA Eraser 缓冲液 2 μ L,gDNA Eraser 1 μ L,总 RNA 2 μ g,加无酶水至总体积为 10 μ L。混匀离心后转至 PCR 仪,42 $^{\circ}$ C 孵育 2 min。然后在体系内加入 10 μ L 的反转录预混液,该预混液含:PrimeScriptRT Enzyme Mix I 1 μ L,RT Primer Mix 4 μ L,5 \times PrimeScript Buffer 24 μ L,RNase-free dH₂O 1 μ L。混匀离心后在 PCR 仪内反应:37 $^{\circ}$ C 15 min,85 $^{\circ}$ C 5 s。逆转录所得 cDNA 用于 qPCR,配制预混液比例为每 10 μ L 反应体系含 FastStart Essential Probes Master 5 μ L、引物及探针各 0.15 μ L 和 RNase-free dH₂O 1 μ L,涡旋混匀后分装于八联管,加入 2 μ L cDNA 模板,再次混匀离心后上机。扩增程序为:95 $^{\circ}$ C 预变性 10 min;95 $^{\circ}$ C 10 s,60 $^{\circ}$ C 30 s,读取荧光值,循环 45 次;最后 40 $^{\circ}$ C 延伸 30 s。反应结束后,以 β -actin 为内参照,使用 2^{- $\Delta\Delta$ C_t} 法计算各组 mRNA 相对含量。

3.3 Western blot 实验 按照组织:裂解液(RIPA:PMSF = 100:1) = 1 g:5 mL 的比例,冰上裂解组织 30 min。离心后取上清,并按 1:20 稀释。严格按照 BCA 蛋白定量试剂盒说明书完成蛋白定量。PSD 中加入 4 \times 样品缓冲液,煮沸 5 min,取 100 μ g

蛋白上样,用 8% SDS-PAGE 分离蛋白并转至经甲醇活化的 PVDF 膜。5% 脱脂奶粉 37 $^{\circ}$ C 恒温振荡封闭 1 h,TBST 漂洗后,将 PVDF 膜放入 5% 脱脂奶粉稀释的 I 抗(表 2),水平摇床 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。TBST 再次漂洗,用经 5% 脱脂奶粉稀释过的辣根过氧化物酶标记 II 抗(表 2)37 $^{\circ}$ C 恒温孵育 2 h,TBST 漂洗后滴上发光液,放入凝胶成像仪中显影。用凝胶图像分析系统测定条带的相对灰度,结果以目的蛋白相对表达量表示。

4 统计学处理

实验数据以均数 \pm 标准误(mean \pm SEM)表示。不同组样本均数间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA)检验,方差齐则采用 Dunnett 检验,方差不齐则采用 Tamhane's T2 检验。所有数据的统计分析由 SPSS 19.0 统计软件完成,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 AVP 不影响视前区 GABA_A 受体 mRNA 表达

除 β 3 亚单位外,AVP 有增加其它亚单位 mRNA 表达的趋势,而 V1a 受体抑制剂减弱了这种趋势。但与对照组相比,AVP 组、V1a 受体抑制剂 + AVP 组和 V1a 受体抑制剂组 GABA_A 受体亚单位 mRNA 变化均没有统计学意义,见图 1。

2 AVP 通过 V1a 受体激活 PKC 和 CaMK II

与对照组相比,外源性 AVP 显著增强大鼠视前区组织 PKC 和 CaMK II 表达及磷酸化($P < 0.01$),这一效应可以被 V1a 受体抑制剂消除($P < 0.01$);单独注射 V1a 受体抑制剂还可以通过阻断内源性 AVP 减少 PKC 和 CaMK II 表达及磷酸化($P < 0.01$),见图 2。

3 AVP 通过 V1a 受体磷酸化 GABA_A 受体 γ 2 亚单位

与对照组比较,AVP 组、V1a 受体抑制剂 + AVP 组和 V1a 受体抑制剂组 GABA_A 受体亚单位(α 、 β 和 γ 2)蛋白变化没有统计学意义。但外源性 AVP 显著增加 GABA_A 受体 γ 2 亚单位磷酸化水平,这一作用可以被 V1a 受体抑制剂所消除($P < 0.05$),而阻断内源性 AVP 并不会引起其磷酸化的减少,见图 3。

讨 论

作为一种激素或神经递质/调质,AVP 在体温的紧张性负调节过程中发挥重要作用^[1]。本课题组前期研究表明,AVP 可以调节视前区热敏神经元的自发放电活动和温度敏感性,而对冷敏和温度不敏感神经元却有相反的作用^[4],这些结果提示 AVP 可以

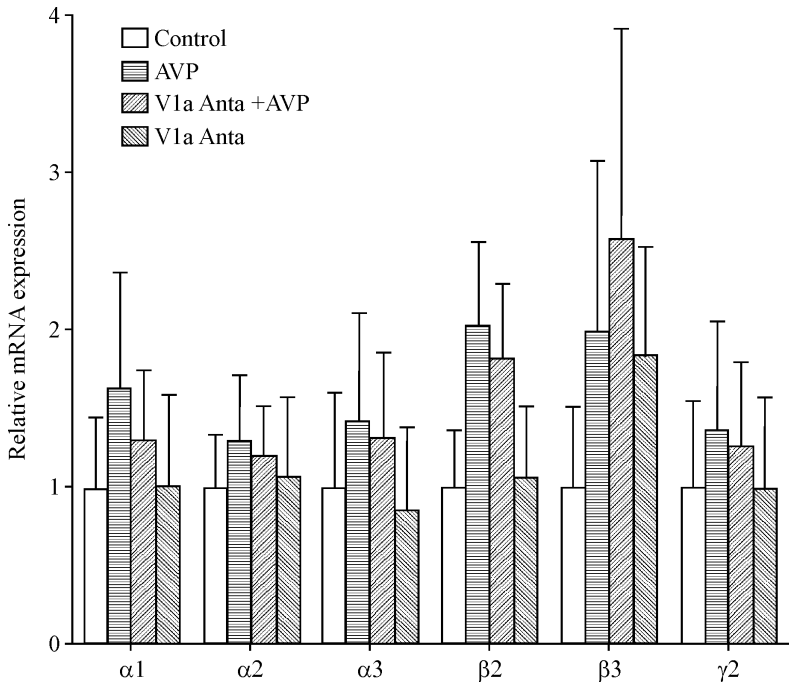


Figure 1. Effects of AVP and V1a receptor antagonist (V1a Anta) on GABA_A receptor subunit mRNA levels in POA tissues of rats. Mean \pm SEM. $n = 6$.

图1 AVP和V1a受体抑制剂对视前区组织GABA_A受体mRNA表达的影响

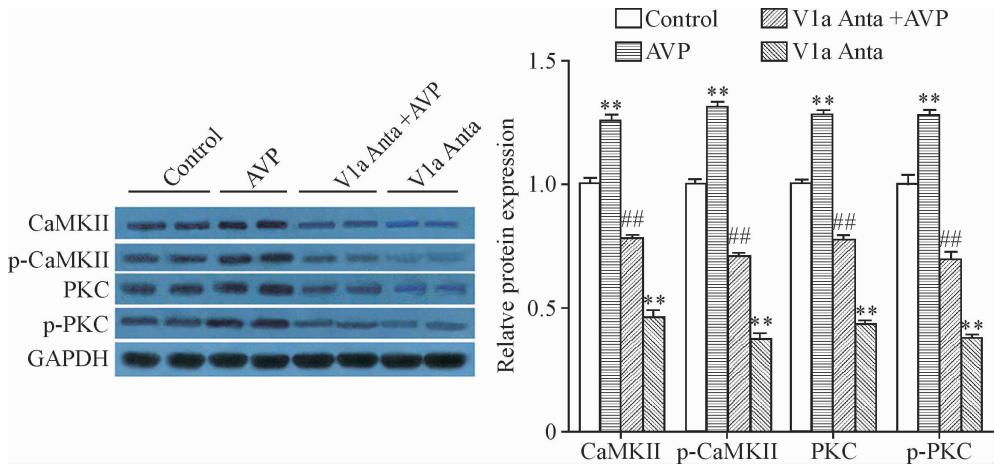


Figure 2. AVP activated PKC and CaMKII in rat POA tissues. Mean \pm SEM. $n = 4$. ** $P < 0.01$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs AVP group.

图2 AVP激活视前区组织PKC和CaMKII

通过 V1a 受体兴奋视前区热敏神经元而抑制冷敏神经元的活动。视前区是重要的调节体温中枢,温度敏感神经元通过控制机体产热与散热反应调节体温,这从电生理角度解释 AVP 对体温的紧张性负调节作用。视前区神经元的自发放电活动还受外周温度传入信号的调制。因此,我们最近研究表明,AVP 差异性调制视前区温度敏感和不敏感神经元抑制性突触后电流^[10]。但灌流正常人工脑脊液时,这些不同温度敏感类型神经元的抑制性突触后电流幅度和频率并没有显著差异。这提示 AVP 可能通过不同机制调制视前区热敏神经元、冷敏感神经元和温

度不敏感神经元抑制性突触传递活动。

与外侧隔区、海马和舌下运动神经元记录的抑制性突触后电流相似^[2,11], AVP 调制的视前区神经元抑制性突触后电流是由 GABA_A 受体介导^[10]。GABA_A 受体是异质寡聚体跨膜蛋白,由 5 个亚基聚合而成,氯离子通道位于 5 个亚基的中心。现已在哺乳类动物大脑中鉴定的 GABA_A 受体亚基有 21 种,分 8 个亚基族,分别为 $\alpha 1 \sim 6$ 、 $\beta 1 \sim 4$ 、 $\gamma 1 \sim 4$ 、 $\rho 1 \sim 3$ 、 δ 、 ϵ 、 π 和 θ 。不同亚基组合受体的功能会有所差异,展现出不同的生理学和药理学特性。一般情况下,构成受体的 5 个亚基由 2 个 α 亚基、2 个 β 亚

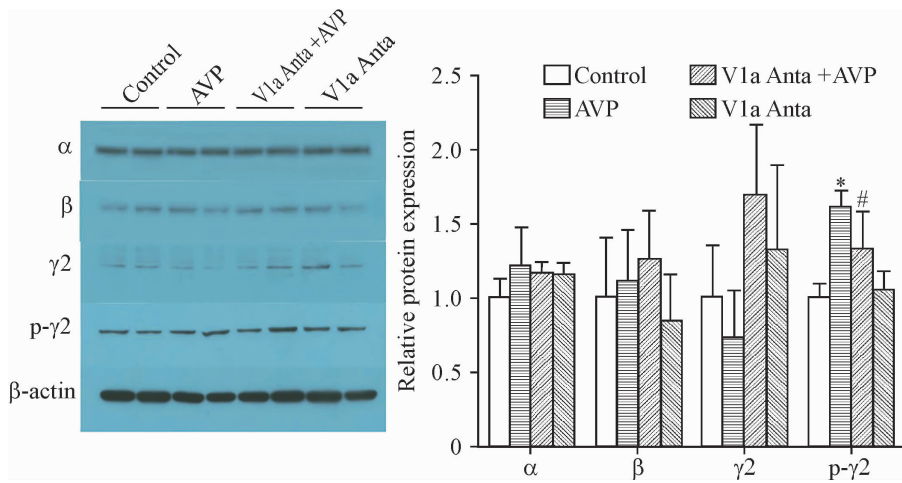


Figure 3. AVP phosphorylated the GABA_A receptor γ 2 subunit in rat POA tissues. Mean \pm SEM. $n = 4$. * $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs AVP group.

图3 AVP磷酸化视前区组织GABA_A受体 γ 2亚单位

基或1个 γ 亚基组成。哺乳动物大脑中构成天然GABA_A受体的亚基主要是 α 、 β 和 γ ，以 α 1、 β 2和 γ 2 3种亚基以2:2:1的比例组成的GABA_A受体为主^[12-13]。有单细胞转录组分析报道视前区热敏神经元表达GABA_A受体亚单位主要为 α 2、 α 3、 β 2和 γ 2^[14]。本研究检测到视前区表达GABA_A受体亚单位 α 1、 α 2、 α 3、 β 2、 β 3和 γ 2 mRNA，印证了上述结果。

AVP受体主要有3种，V1a、V1b和V2受体，最早分别在血管平滑肌、垂体、肾脏远曲小管和集合管发现^[1]。电生理结果证实V1a受体阻断剂可消除AVP对视前区神经元抑制性突触后电流的调制作用^[10]。激活V1a受体，通过PLC信号通路引起胞内钙离子浓度升高并激活PKC和CaMKII^[1]。AVP抑制视前区神经元GABA_A受体的机制可能涉及3方面：首先，激活V1a受体调节GABA_A受体表达；其次，PKC或CaMKII通过磷酸化调制GABA_A受体功能^[15-16]；最后，PKC磷酸化引起GABA_A受体内化，减少膜上表达^[17]。本实验验证在视前区表达GABA_A受体亚单位 α 1、 α 2、 α 3、 β 2、 β 3和 γ 2。但RT-qPCR和Western blot实验结果并不支持AVP通过激活V1a受体调节GABA_A受体基因和蛋白表达。这可能和实验取材有关，实验取的视前区组织既含有热敏神经元，也有冷敏和温度不敏感神经元，无法分离单一温度敏感类型的神经元。由于AVP可以差异性调制视前区温度敏感和不敏感神经元抑制性突触后电流，所以我们推测AVP可能下调GABA_A受体在热敏、冷敏神经元、中等斜率温度不敏感神经元和部分低斜率温度不敏感神经元的表达，而上调其在另外部分低斜率温度不敏感神经元的表达。因此，

在后续的研究中可以通过单细胞RT-PCR或转录组技术，进一步证实AVP是否引起不同温度敏感类型神经元GABA_A受体mRNA表达的差异。

本实验结果提示AVP提高了视前区PKC磷酸化水平。PKC通过磷酸化通道可以减少GABA引起的抑制性突触后电流幅度而不影响电流衰减时间常数^[15]，而近期课题组显示AVP降低热敏、冷敏神经元抑制性突触后电流幅度，却没有改变其通道动力学参数^[10]，这提示V1a受体激活的PKC可能对视前区热敏神经元和冷敏神经元的GABA_A受体磷酸化水平产生影响，从而引起AVP对电流幅度的抑制而不改变通道动力学参数。抑制性突触后电流幅度的减少与PKC磷酸化GABA_A受体 β 1(S409)、 β 3和 γ 2(S327和S343)亚单位有关^[12,15]。本实验也证实了这一观点，AVP引起视前区组织GABA_A受体 γ 2亚单位磷酸化水平增加。

本实验结果还提示AVP引起视前区CaMKII磷酸化水平升高。CaMKII的激活可以通过2个方面影响GABA_A受体^[13,16]：第一，通过磷酸化含有 β 3亚单位受体的 β 3(S383)和 γ 2(Y365/7)，增加抑制性突触后电流时间；第二，通过磷酸化促进受体从囊泡上膜，使含有 β 2亚单位的受体电流幅度增加而不改变通道动力学参数^[18-19]。这可部分解释AVP增加视前区低斜率温度不敏感神经元抑制性突触后电流幅度并且影响通道动力学参数^[10]。

综上所述，本研究证实AVP通过V1a受体激活PKC和CaMKII，影响视前区GABA_A受体 γ 2亚单位磷酸化水平，而不改变受体mRNA和蛋白表达。这可能是AVP差异性地调制视前区神经元GABA能突触传递的分子机制之一。

[参 考 文 献]

- [1] Raggenbass M. Overview of cellular electrophysiological actions of vasopressin[J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 583(2-3):243-254.
- [2] Ramanathan G, Cilz NI, Kurada L, et al. Vasopressin facilitates GABAergic transmission in rat hippocampus via activation of V_{1A} receptors [J]. *Neuropharmacology*, 2012, 63(7): 1218-1226.
- [3] Yang YL, Liu LH, Zhang Y. Role of endogenous arginine vasopressin in soman-induced hypothermia in rats [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2003, 19(2):240-243.
- [4] Tang Y, Yang YL, Wang N, et al. Effects of arginine vasopressin on firing activity and thermosensitivity of rat PO/AH area neurons[J]. *Neuroscience*, 2012, 219:10-22.
- [5] Tansey EA, Johnson CD. Recent advances in thermoregulation[J]. *Adv Physiol Educ*, 2015, 39(3):139-148.
- [6] Morrison SF, Nakamura K. Central neural pathways for thermoregulation[J]. *Front Biosci*, 2011, 16:74-104.
- [7] Morrison SF. Central neural control of thermoregulation and brown adipose tissue [J]. *Auton Neurosci*, 2016, 196:14-24.
- [8] Yakimova K, Sann H, Schmid HA, et al. Effects of GABA agonists and antagonists on temperature-sensitive neurones in the rat hypothalamus [J]. *J Physiol*, 1996, 494(Pt 1):217-230.
- [9] Zhao ZD, Yang WZ, Gao C, et al. A hypothalamic circuit that controls body temperature[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(8):2042-2047.
- [10] Tang Y, Sun YN, Xu R, et al. Arginine vasopressin differentially modulates GABAergic synaptic transmission onto temperature-sensitive and temperature-insensitive neurons in the rat preoptic area [J]. *Eur J Neurosci*, 2018, 47(7):866-886.
- [11] Allaman-Exertier G, Reymond-Marron I, Tribollet E, et al. Vasopressin modulates lateral septal network activity via two distinct electrophysiological mechanisms[J]. *Eur J Neurosci*, 2007, 26(9):2633-2642.
- [12] Brandon NJ, Delmas P, Kittler JT, et al. GABA_A receptor phosphorylation and functional modulation in cortical neurons by a protein kinase C-dependent pathway[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(49):38856-38862.
- [13] Houston CM, Smart TG. CaMK-II modulation of GABA_A receptors expressed in HEK293, NG108-15 and rat cerebellar granule neurons [J]. *Eur J Neurosci*, 2006, 24(9):2504-2514.
- [14] Eberwine J, Bartfai T. Single cell transcriptomics of hypothalamic warm sensitive neurons that control core body temperature and fever response signaling asymmetry and an extension of chemical neuroanatomy[J]. *Pharmacol Ther*, 2011, 129(3):241-259.
- [15] Krishek BJ, Xie X, Blackstone C, et al. Regulation of GABA_A receptor function by protein kinase C phosphorylation[J]. *Neuron*, 1994, 12(5):1081-1095.
- [16] Houston CM, He Q, Smart TG. CaMKII phosphorylation of the GABA_A receptor: receptor subtype- and synapse-specific modulation[J]. *J Physiol*, 2009, 587(Pt 10):2115-2125.
- [17] Abramian AM, Comenencia-Ortiz E, Vithlani M, et al. Protein kinase C phosphorylation regulates membrane insertion of GABA_A receptor subtypes that mediate tonic inhibition [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(53):41795-41805.
- [18] Wei J, Zhang M, Zhu Y, et al. Ca²⁺-calmodulin signaling pathway up-regulates GABA synaptic transmission through cytoskeleton-mediated mechanisms [J]. *Neuroscience*, 2004, 127(3):637-647.
- [19] Houston CM, Hosie AM, Smart TG. Distinct regulation of $\beta 2$ and $\beta 3$ subunit-containing cerebellar synaptic GABA_A receptors by calcium/calmodulin-dependent protein kinase II [J]. *J Neurosci*, 2008, 28(30):7574-7584.

(责任编辑:林白霜,罗森)