

[综述]

## 神经元周围基质网与其在药物成瘾中的功能\*

付杨雪<sup>1,2</sup> 王文豪<sup>1,2</sup> 章文<sup>1,2\*\*</sup><sup>1</sup>(北京大学中国药物依赖性研究所,北京,100191)<sup>2</sup>(北京大学基础医学院,北京,100191)

**摘要** 神经元周围基质网(perineuronal nets, PNNs)在中枢系统中作为一种特殊而重要的细胞外基质,以网状结构包绕在小清蛋白阳性(Parvalbumin<sup>+</sup>, PV<sup>+</sup>)中间神经元周围,并参与了一系列重要的神经生物学功能。本文主要介绍了PNNs的主要构成与成熟过程,简述了PNNs与学习和记忆之间的联系和相互影响,以及PNNs的组成蛋白在这一过程中的作用。最后以病理学意义为着眼点,介绍了PNNs在成瘾过程中发挥的重要功能。

**关键词** 药物成瘾;围神经元网;中间神经元;学习与记忆

doi: 10.13936/j.cnki.cjdd1992.2018.05.001

中图分类号 Q421

细胞外基质是一种广泛存在于细胞外的3D结构,它不仅起到对组织的结构支撑作用,也在生理与病理过程中发挥着重要作用。在中枢神经系统,尤其是大脑皮层中存在一种特殊的细胞外基质结构,被称为围神经元网(perineuronal nets, PNNs)。早在120年前,诺贝尔奖得主Camillo Golgi就已发现了这一结构,并描述到“这是一种精细的覆盖物,主要是网状结构,但结构中也有微小的倾斜鳞片或被打断的包膜,它包围着所有神经细胞的胞体,并继续沿着它们的原生质的延伸(树突)而到达第二和第三级的分枝”<sup>[1]</sup>。进一步的研究发现,PNNs在大脑皮层主要分布于一类特殊的 $\gamma$ -氨基丁酸能神经元周围,这一类神经元也表达一种特殊的Ca<sup>2+</sup>结合蛋白——小清蛋白(Parvalbumin)<sup>[2]</sup>,因此这类神经元也被称为PV<sup>+</sup>中间神经元。直到近十年来,PNNs对于PV<sup>+</sup>神经元的功能与学习与记忆的重要性才逐渐被发现。

## 1 PNNs的组成

PNNs在PV<sup>+</sup>神经元胞体,近端树突以及轴突近端周围构成网格状结构,它是由硫酸软骨素蛋白多糖(Chondroitin sulfate proteoglycan, CSPGs),透明质酸(Hyaluronic acid),肌腱蛋白-R(Tenascin-R)和连接蛋白(Ligandin)组成的<sup>[3-4]</sup>。颤蛋白

(Reelin)和脑信号蛋白3A(Semaphorin 3A)虽不是PNNs的组成部分,但与PNNs连接或相互作用<sup>[5]</sup>。CSPGs主要包括Aggrecan, Brevican, Neurocan与Versican,相关基因分别为Acan, Bcan, Ncan和Vcan。这些蛋白都属于凝集素家族,它们与连接蛋白及Hyaluronan结合,进而构成稳定的PNN结构。参与PNN构成的连接蛋白主要为Hapln1与Hapln4,分别由Hapln1和Hapln4基因编码。在这些参与PNNs构成的蛋白中,Aggrecan被认为对PNNs的形成起着重要作用。研究发现Acan基因敲除小鼠,虽然皮层神经元仍然能够正常分化,但无法形成PNNs<sup>[6]</sup>。而在大脑中敲除Hapln1后,虽然仍然可以观察到细胞外的PNNs,但其结构出现异常<sup>[7]</sup>。缺乏Hapln4的小鼠PNNs中的Brevican蛋白降低<sup>[8]</sup>。在小鼠中敲除肌腱蛋白-R也能观察到与Hapln1敲除类似的性状<sup>[9]</sup>。

在大脑发育的过程中,PNNs随着年龄的增长逐渐成熟,并且这一成熟过程也与PV<sup>+</sup>神经元的发育过程相关。在小鼠皮层,PNNs一般从出生后的第二周开始出现,发育到5周龄时形成与成年动物类似的结构<sup>[10]</sup>。已有的一些研究表明,PNNs的发育过程受神经元的兴奋性突触活动调节,并且完成时间与体感皮层关键期的结束在相同的时限内<sup>[11-12]</sup>。

多个实验室的研究提示,PNNs受多种环境因素影响。例如,针对啮齿类动物的研究表明,环境丰富、社交隔离均会引起PNNs的结构变化。环境丰富引起海马CA2区的PNNs增加<sup>[13]</sup>,社交隔离则导致PNNs在皮层降低<sup>[14]</sup>。而感觉剥夺<sup>[11]</sup>、癫痫样神经活动变化<sup>[15]</sup>与学习<sup>[16]</sup>均导致PNNs在相关脑区

\* 北京大学引进人才计划与启动基金(BMU20160555);国家自然科学基金项目(31741060),科技部973项目(2015CB553500)

\*\* 通信作者: E-mail: zhangw@hsc.pku.edu.cn

的表达降低。另外研究发现,神经元去极化可诱导 *Acan* 基因表达<sup>[17]</sup>,这也说明神经活动可以调节 PNNs 构成,同样提示学习与记忆会对 PNNs 产生影响。

## 2 PNNs 和学习与记忆

最早关于 PNNs 和学习与记忆的关系是由药理学实验证实的。因为缺乏针对 PNNs 组成蛋白的特异性药物,研究人员使用一种降解 PNNs 的药物 Chondroitinase (ChABC) 注射到杏仁核,发现它可以消除动物的长时程恐惧记忆<sup>[16]</sup>。随后的一系列研究发现,在恐惧记忆训练 4 h 后 PNNs 主要组分的 mRNA 在听觉皮层有显著增加<sup>[18]</sup>,而在海马和前额叶皮层破坏 PNNs 均会对恐惧记忆起到破坏作用<sup>[19]</sup>。

随后的研究发现 PNNs 在其他与学习记忆相关的行为中也发生了变化。例如,敲除 *Hapln1* 可以促进小鼠对于物体识别的长时程记忆,而这一过程也可通过内嗅皮层注射 ChABC 再现,并且敲除 *Hapln1* 增强了内嗅皮层的长时程抑制现象<sup>[20]</sup>。在听觉皮层消除 PNNs 可以提高动物与逆转学习相关的行为能力<sup>[21]</sup>。与之相对应的是在成年动物中,使用 ChABC 降解 PNNs 使得单眼剥夺在视觉皮层再一次引起眼优势转变至未剥夺侧眼<sup>[12]</sup>。这些结果均提示 PNNs 的成熟与神经可塑性成负相关,通过药物或是基因干预打破 PNNs 的成熟与稳定会促进皮层的可塑性。而最近人们发现在听觉皮层单独影响 *Brevican* 的表达也可以产生类似的现象<sup>[22]</sup>。

## 3 PNNs 与药物成瘾

药物滥用的一个典型后果是患者在明确理解药物带来的负面影响后仍不能停止使用。药物滥用导致大脑多个脑区产生长时程的功能变化,产生病理性的记忆。在对多种成瘾性物质的研究中发现,药物滥用可在多个脑区导致 PNNs 的变化。例如可卡因、海洛因、尼古丁均导致了 PNNs 在前额叶皮层的降低。值得注意的是,不同物质引起的 PNNs 变化也不尽相同,如酒精导致了眶额皮层、海马与岛叶的 PNNs 上调,以及 *Brevican* 和 *Neurocan* 等的上升<sup>[23,24]</sup>。降低 PNNs 在成年动物中的表达可以促进相关脑区的可塑性变化,而药物滥用所导致 PNNs 的结构变化也提示 PNNs 可能参与了大脑对药物的病理反应,以及与药物相关经验的学习与记忆过程。考虑到药物成瘾的一个难以治疗的原因是当患者再

次接触药物使用的环境时容易引发复吸,如果 PNNs 参与了药物成瘾相关的记忆的形成与维持,那么通过调节这一结构变化也有可能起到治疗药物成瘾的效果。随后的研究也证明了这一可能性。

条件性位置偏爱 (conditioned place preference, CPP) 是一种研究药物成瘾常用的行为范式,即通过把药物注射与环境线索结合,使动物在训练结束后会对伴随药物注射的环境产生偏好。训练前,在前额叶皮层的边缘前区或下丘的前背外侧区注射 ChABC 降低 PNNs,可以降低动物在测试中对可卡因注射侧环境的偏好。而在 CPP 测试后再注射 ChABC 于额叶皮层的边缘前区则不会影响消退与复吸行为。但在消退后注射 ChABC,成瘾动物的复吸行为降低。这些结果都提示 PNNs 对于药物记忆的重要性。另一方面,在参与药物成瘾的不同脑区中,PNNs 可能发挥着不同的功能。例如,吗啡和可卡因诱导的 CPP 模型动物中,在消退训练的同时在杏仁核注射 ChABC 可以降低复吸。

虽然目前已发现了 PNNs 在成瘾过程中的重要作用,但对于 PNNs 中多种组分是否存在着特异性作用仍待探索。最近的一项研究利用 *Brevican* 杂合子小鼠检测了其对于 CPP 行为的影响<sup>[25]</sup>。*Brevican* 杂合子小鼠相对于野生型仅表达大约 50% 的 *Brevican*。在 CPP 训练后第 3 周相对于第 1 周杂合子小鼠表现出明显更偏好于与可卡因匹配的环境。有趣的是在海马而不是前额叶皮层中过表达 *Brevican* 后,*Brevican* 杂合子小鼠的偏好增强趋势被逆转。此外仅在训练前进行过表达 *Brevican*,可以影响远期的渴求行为,而在训练结束后 *Brevican* 过表达则对 *Brevican* 杂合子小鼠的行为没有影响。这也提示 *Brevican* 对于 CPP 记忆的调控存在着时间特异性,也说明 PNNs 组分的表达量可能与神经可塑性以及学习与记忆存在着负相关的关系。

## 4 总结

PNNs 作为一种主要包裹在 PV<sup>+</sup> 神经元周围的细胞外基质,其在学习与记忆过程中的重要作用已被越来越多的实验所证实。基于此,已有假说提出 PNNs 的结构变化可能是记忆存储的一种重要机制<sup>[26]</sup>。需要注意的是 PNNs 在大脑尤其是皮层中主要存在于 PV<sup>+</sup> 中间神经元周围,但对 PV<sup>+</sup> 神经元的功能的影响还缺乏系统理解。直到最近有研究报道指出敲除 *Brevican* 使得 PV<sup>+</sup> 神经元的内源性兴奋性降低,动作电位输出减少;同时也降低了 PV<sup>+</sup> 神经元所接受的兴奋性输

入<sup>[27]</sup>。这说明 PNNs 结构的消减导致了 PV<sup>+</sup> 神经元输入与输出的降低。但这是否为 PNNs 结构成熟与神经可塑性呈负相关的原因仍需要进一步探索。此外目前对 PNNs 是否能调节 PV<sup>+</sup> 神经元介导的抑制性突触传

递的功能仍不了解。与之相对应的,要全面理解 PNNs 在药物成瘾与滥用中的作用和可能的治疗潜力,需要我们进一步探索它在时间上的变化规律与引起的 PV<sup>+</sup> 神经元发生的功能变化规律。

## 5 参考文献

- [1] Golgi C. Intorno alla struttura delle cellule nervose [J]. Boll Soc Med Chir Pavia, 1898, 13: 1-14.
- [2] Hartig W, Brauer K, Bruckner G. Wisteria floribunda agglutinin - labelled nets surround parvalbumin - containing neurons [J]. Neuroreport, 1992, 3: 869-872.
- [3] Celio MR, Spreafico R, De Biasi S, et al. Perineuronal nets: past and present [J]. Trends Neurosci, 1998, 21: 510-515.
- [4] Deepa SS, Carulli D, Galtrey C, et al. Composition of perineuronal net extracellular matrix in rat brain: a different disaccharide composition for the net - associated proteoglycans [J]. J Biol Chem, 2006, 281: 17789-17800.
- [5] Bandtlow CE, Zimmermann DR. Proteoglycans in the developing brain: new conceptual insights for old proteins [J]. Physiol Rev, 2000, 80: 1267-1290.
- [6] Giamanco KA, Morawski M, Matthews RT. Perineuronal net formation and structure in aggrecan knockout mice [J]. Neuroscience, 2010, 170: 1314-1327.
- [7] Carulli D, Pizzorusso T, Kwok JC, et al. Animals lacking link protein have attenuated perineuronal nets and persistent plasticity [J]. Brain, 2010, 133: 2331-2347.
- [8] Bekku Y, Saito M, Moser M, et al. Bral2 is indispensable for the proper localization of brevicin and the structural integrity of the perineuronal net in the brainstem and cerebellum [J]. J Comp Neurol, 2012, 520: 1721-1736.
- [9] Weber P, Bartsch U, Rasband MN, et al. Mice deficient for tenascin - R display alterations of the extracellular matrix and decreased axonal conduction velocities in the CNS [J]. J Neurosci, 1999, 19: 4245-4262.
- [10] Nowicka D, Soulsby S, Skangiel - Kramaska J, et al. Parvalbumin - containing neurons, perineuronal nets and experience - dependent plasticity in murine barrel cortex [J]. Eur J Neurosci, 2009, 30: 2053-2063.
- [11] McRae PA, Rocco MM, Kelly G, et al. Sensory deprivation alters aggrecan and perineuronal net expression in the mouse barrel cortex [J]. J Neurosci, 2007, 27: 5405-5413.
- [12] Pizzorusso T, Medini P, Berardi N, et al. Reactivation of ocular dominance plasticity in the adult visual cortex [J]. Science, 2002, 298: 1248-1251.
- [13] Carstens KE, Phillips ML, Pozzo - Miller L, et al. Perineuronal Nets Suppress Plasticity of Excitatory Synapses on CA2 Pyramidal Neurons [J]. J Neurosci, 2016, 36: 6312-6320.
- [14] Ueno H, Suemitsu S, Murakami S, et al. Region - specific impairments in parvalbumin interneurons in social isolation - reared mice [J]. Neuroscience, 2017, 359: 196-208.
- [15] Pollock E, Everest M, Brown A, et al. Metalloproteinase inhibition prevents inhibitory synapse reorganization and seizure genesis [J]. Neurobiol Dis, 2014, 70: 21-31.
- [16] Gogolla N, Caroni P, Luthi A, et al. Perineuronal nets protect fear memories from erasure [J]. Science, 2009, 325: 1258-1261.
- [17] Giamanco KA, Matthews RT. Deconstructing the perineuronal net: cellular contributions and molecular composition of the neuronal extracellular matrix [J]. Neuroscience, 2012, 218: 367-384.
- [18] Banerjee SB, Gutzeit VA, Baman J, et al. Perineuronal Nets in the Adult Sensory Cortex Are Necessary for Fear Learning [J]. Neuron, 2017, 95: 169-179 e3.
- [19] Hylin MJ, Orsi SA, Moore AN, et al. Disruption of the perineuronal net in the hippocampus or medial prefrontal cortex impairs fear conditioning [J]. Learn Mem, 2013, 20: 267-273.
- [20] Romberg C, Yang S, Melani R, et al. Depletion of perineuronal nets enhances recognition memory and long - term depression in the perirhinal cortex [J]. J Neurosci, 2013, 33: 7057-7065.
- [21] Happel MF, Niekisch H, Castiblanco Rivera LL, et al. Enhanced cognitive flexibility in reversal learning induced by removal of the extracellular matrix in auditory cortex [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111: 2800-2805.

(下转第 323 页)

- [32] Winsky – Sommerer R. Role of GABA( A) receptors in the physiology and pharmacology of sleep [J]. *Eur J Neurosci* ,2009 , 29: 1779 – 1794 , doi: 10. 1111/j. 1460 – 9568. 2009. 06716. x .
- [33] Uusi – Oukari M , Korpi ER. Regulation of GABA( A) receptor subunit expression by pharmacological agents [J]. *Pharmacol Rev* ,2010 ,62 ,97 – 135.
- [34] Vienne J , Bettler B , Franken P , et al. Differential effects of GABAB receptor subtypes , { gamma} – hydroxybutyric Acid , and Baclofen on EEG activity and sleep regulation [J]. *J Neurosci* ,2010 , 30: 14194 – 14204 , doi: 10. 1523/JNEUROSCI. 3145 – 10. 2010 .
- [35] Yamatsu A , Yamashita Y , Maru I , et al. The Improvement of Sleep by Oral Intake of GABA and Apocynum venetum Leaf Extract [J]. *J Nutr Sci Vitaminol ( Tokyo)* ,2015 ,61: 182 – 187 , doi: 10. 3177/jnsv. 61. 182.
- [36] Koob GF , Le Moal M. Drug addiction , dysregulation of reward , and allostasis [J]. *Neuropsychopharmacology* ,2001 ,24: 97 – 129 , doi: 10. 1016/S0893 – 133X( 00) 00195 – 0.
- [37] Noble EP. Addiction and its reward process through polymorphisms of the D2 dopamine receptor gene: a review [J]. *Eur Psychiatry* ,2000 , 15: 79 – 89.
- [38] Kita K , Shiratani T , Takenouchi K , et al. Effects of D1 and D2 dopamine receptor antagonists on cocaine – induced self – stimulation and locomotor activity in rats [J]. *Eur Neuropsychopharmacol* ,1999 ,9: 1 – 7.
- [39] Koob GF. Drugs of abuse: anatomy , pharmacology and function of reward pathways [J]. *Trends Pharmacol Sci* ,1992 ,13: 177 – 184.
- [40] Rye DB , Jankovic J. Emerging views of dopamine in modulating sleep/wake state from an unlikely source: PD [J]. *Neurology* , 2002 ,58: 341 – 346.
- [41] Lu J , Zhou TC , Saper CB. Identification of wake – active dopaminergic neurons in the ventral periaqueductal gray matter [J]. *J Neurosci* ,2006 ,26: 193 – 202 , doi: 10. 1523/JNEUROSCI. 2244 – 05. 2006.
- [42] Huang ZL , Urade Y , Hayaishi O. Prostaglandins and adenosine in the regulation of sleep and wakefulness [J]. *Curr Opin Pharmacol* ,2007 ,7: 33 – 38.
- [43] Ongini E , Caporali MG. Differential effects of dopamine D – 1 and D – 2 receptor agonists on EEG activity and behaviour in the rabbit [J]. *Neuropharmacology* ,1987 ,26: 355 – 360.
- [44] Sebban C , Zhang XQ , Tesolin – Decros B , et al. Changes in EEG spectral power in the prefrontal cortex of conscious rats elicited by drugs interacting with dopaminergic and noradrenergic transmission [J]. *Br J Pharmacol* ,1999 ,128: 1045 – 1054.
- [45] Langston JW. Mechanisms underlying neuronal degeneration in Parkinson’s disease: an experimental and theoretical treatise [J]. *Mov Disorders* ,1989 ,4 Suppl 1 , S15 – 25.
- [46] Wiers CE , Shumay E , Cabrera E , et al. Reduced sleep duration mediates decreases in striatal D2/D3 receptor availability in cocaine abusers [J]. *Transl psychiatry* ,2016 ,6: e752.

收稿日期:2018 – 09 – 07

修回日期:2018 – 09 – 30

## ( 上接第 317 页)

- [22] Favuzzi E , Marques – Smith A , Deogracias R , et al. Activity – Dependent Gating of Parvalbumin Interneuron Function by the Perineuronal Net Protein Brevican [J]. *Neuron* ,2017 ,95: 639 – 655 e10.
- [23] Chen H , He D , Lasek AW. Repeated Binge Drinking Increases Perineuronal Nets in the Insular Cortex [J]. *Alcohol Clin Exp Res* ,2015 ,39: 1930 – 1938.
- [24] Coleman LG Jr , Liu W , Oguz I , et al. Adolescent binge ethanol treatment alters adult brain regional volumes , cortical extracellular matrix protein and behavioral flexibility [J]. *Pharmacol Biochem Behav* ,2014 ,116: 142 – 151.
- [25] Lubbers BR , Matos MR , Horn A , et al. The Extracellular Matrix Protein Brevican Limits Time – Dependent Enhancement of Cocaine Conditioned Place Preference [J]. *Neuropsychopharmacology* ,2016 ,41: 1907 – 1916.
- [26] Tsien RY. Very long – term memories may be stored in the pattern of holes in the perineuronal net [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A* ,2013 ,110: 12456 – 12461.
- [27] Favuzzi E , Marques – Smith A , Deogracias R , et al. Activity – Dependent Gating of Parvalbumin Interneuron Function by the Perineuronal Net Protein Brevican [J]. *Neuron* ,2017 ,95: 1 – 28.

收稿日期:2018 – 09 – 26

修回日期:2018 – 10 – 09