doi：10.7499/j.issn.1008-8830.2501086

论著·实验研究

高氧对新生大鼠海马区N-甲基-D-天冬氨酸受体1及其突触相关分子表达的影响

熊奕[1]　程琳[1]　蒋娜[2]　王团美[2]　薄涛[1]

（1.中南大学湘雅三医院儿科，湖南长沙　410013；2.长沙市妇幼保健院，湖南长沙　410007）

［摘要］**目的**　探究高氧对新生大鼠海马区N-甲基-D-天冬氨酸受体1（N-methyl-D-aspartate receptor 1，NMDAR1）及其突触相关分子大麻素受体1（cannabinoid receptor 1，CB1R）、突触后致密物（postsynaptic density，PSD）95及突触素（synapsin，SYN）表达的影响。**方法**　选取1日龄Sprague-Dawley新生大鼠，分为高氧组和对照组（n=8），高氧组持续吸入80%±5%氧气，对照组吸入空气，干预7 d。分别于高氧暴露后1、3、7 d，采用苏木精-伊红染色观察脑组织病理学改变，免疫组织化学染色、蛋白质印迹法及实时荧光定量PCR检测海马区NMDAR1、CB1R、PSD95和SYN蛋白及mRNA表达变化。**结果**　高氧暴露7 d时，高氧组脑组织神经细胞密度降低，排列紊乱。与对照组相比，高氧暴露1 d时，高氧组CB1R mRNA及NMDAR1、CB1R蛋白表达显著下调，SYN蛋白表达显著上调（P<0.05）；高氧暴露3 d时，高氧组NMDAR1、CB1R及SYN mRNA表达显著下调（P<0.05），NMDAR1、CB1R蛋白表达显著下调（P<0.05），PSD95、SYN蛋白表达显著上调（P<0.05）；高氧暴露7 d时，高氧组NMDAR1、CB1R蛋白表达显著上调（P<0.05）。**结论**　持续高氧暴露可导致新生大鼠海马区NMDAR1及其突触相关分子的表达水平发生时间依赖性改变。

［中国当代儿科杂志，2025，27（8）：1002-1010］

［关键词］脑发育；高氧；海马；NMDA受体1；新生大鼠

Effects of hyperoxia on the expression of hippocampal N-methyl D-aspartate receptor 1 and its synapse-associated molecules in neonatal rats

XIONG Yi, CHENG Lin, JIANG Na, WANG Tuan-Mei, BO Tao. Department of Pediatrics, Third Xiangya Hosptial, Central South University, Changsha 410013, China (Bo T, Email: boily@yeah.net); Changsha Maternal and Child Healthcare Hospital, Changsha 410007, China (Wang T-M, Email: 1396308863@qq.com)

Abstract: Objective　To investigate the effects of hyperoxia on the expression of N-methyl-D-aspartate receptor 1 (NMDAR1) and its synapse-associated molecules, including cannabinoid receptor 1 (CB1R), postsynaptic density 95 (PSD95), and synapsin (SYN), in the hippocampus of neonatal rats. **Methods**　One-day-old Sprague-Dawley neonatal rats were randomly divided into a hyperoxia group and a control group (n=8 per group). The hyperoxia group was exposed to 80% ± 5% oxygen continuously, while the control group was exposed to room air, for 7 days. At 1, 3, and 7 days after hyperoxia exposure, hematoxylin and eosin (HE) staining was used to observe histopathological changes in the brain. The expression levels of NMDAR1, CB1R, PSD95, and SYN proteins and mRNAs in the hippocampus were detected by immunohistochemistry, Western blotting, and quantitative real-time PCR. **Results**　After 7 days of hyperoxia exposure, the hyperoxia group showed decreased neuronal density and disordered arrangement in brain tissue. Compared with the control group, after 1 day of hyperoxia exposure, CB1R mRNA and both NMDAR1 and CB1R protein expression in the hyperoxia group were significantly downregulated, while SYN protein expression was significantly upregulated (P<0.05). After 3 days, mRNA expression of NMDAR1, CB1R, and SYN was significantly decreased (P<0.05); NMDAR1 and CB1R protein expression was significantly downregulated (P<0.05), while PSD95

［收稿日期］2025-01-21；［接受日期］2025-06-20
［基金项目］湖南省自然科学基金（2022JJ30068）。
［作者简介］熊奕，女，硕士研究生。
［通信作者］薄涛，男，教授，主任医师，Email：boily@yeah.net；王团美，女，主任医师，Email：1396308863@qq.com。

and SYN protein expression was significantly upregulated (P<0.05). After 7 days of hyperoxia, the protein expression of NMDAR1 and CB1R was significantly upregulated (P<0.05). **Conclusions** Continuous hyperoxia exposure induces time-dependent changes in the expression levels of NMDAR1 and its synapse-associated molecules in the hippocampus of neonatal rats. **[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2025, 27(8): 1002-1010]**

Key words: Brain development; Hyperoxia; Hippocampus; NMDA receptor 1; Neonatal rat

氧是人类生存所必需的，但越来越多的证据表明氧毒性的存在，高氧可导致机体损害[1]。新生儿作为发育中的个体，对高氧更为敏感，现已明确，不恰当地给予氧疗导致的高氧血症与新生儿不良预后密切相关[2-4]。既往研究多聚焦于早产儿视网膜病、慢性肺疾病与高氧的相关性[5-6]。近年研究则证实，高氧对发育中的脑可造成不可逆的损伤，其损伤程度和易感部位与吸入氧浓度、高氧暴露的时间及脑成熟程度等因素相关，是导致新生儿神经系统不良预后的重要因素之一[7-9]。高氧不仅可造成神经细胞死亡，还会干扰脑发育过程，破坏发育中脑的神经可塑性及髓鞘发育[10-12]。本研究组既往研究发现，高氧暴露导致新生大鼠海马区 mRNA 表达谱发生显著变化，这与包括突触形成在内的多条信号通路相关[13]。

突触是神经元之间实现功能联系的关键部位，也是信息传递的核心结构。在脑发育过程中，正常突触的建立是神经系统构筑的基础，而突触发育异常将造成脑发育和功能的异常。根据突触传导的性质，分为兴奋性突触和抑制性突触，在脑发育早期，以兴奋性突触占优势。海马作为参与学习、记忆及定向转换的重要脑区，有密集的突触[14]。在发育中的海马区，N-甲基-D-天冬氨酸受体（N-methyl-D-aspartate receptor, NMDAR）作为兴奋性神经递质谷氨酸的主要受体之一，除参与兴奋性突触传导之外，还与神经元网络活动和认知、神经系统的发育、学习和记忆密切相关[15-17]，NMDAR1 是构成 NMDAR 的基础亚单位，而大麻素受体 1（cannabinoid receptor 1, CB1R）、突触后致密物（postsynaptic density, PSD）95 及突触素（synapsin, SYN）等突触相关分子则与 NMDAR1 功能调节密切相关，深度参与脑发育过程[18]。高氧是否直接影响这些分子的表达，从而参与高氧性脑损伤，其机制尚不清楚。本研究通过建立新生大鼠高氧暴露模型，研究上述分子在新生大鼠海马区的表达变化，旨在进一步阐明高氧所致发育中脑损伤的机制。

1 材料与方法

1.1 新生大鼠高氧暴露模型的建立及实验分组

取 1 日龄新生 Sprague-Dawley 大鼠（湖南斯莱克景达实验动物有限公司），制作新生大鼠高氧暴露模型[19-22]，依据是否吸入高氧，将大鼠分为高氧组和对照组，每组各 8 只。高氧组持续吸入高浓度氧气（医用制氧机：欧格斯，型号 OZ-5-01TWO），氧浓度维持在 80%±5%（v/v）（氧浓度测定仪：艾普，型号 CY-12C），对照组为同日龄吸入空气的新生大鼠。每组取 4 只新生大鼠分离海马组织，分别提取蛋白和 RNA，用于蛋白印迹和实时定量 PCR 实验；每组另取 4 只新生大鼠的脑组织用于苏木精–伊红（hematoxylin-eosin, HE）和免疫组织化学染色。

1.2 HE 染色

于高氧吸入后 1、3、7 d 断头取脑，每组大脑半球经 4% 多聚甲醛固定 24 h，冲洗后脱水、透明、石蜡包埋。切片机切取 4 μm 厚切片，干燥后先后置于二甲苯Ⅰ、二甲苯Ⅱ中脱蜡，再经梯度乙醇水化。采用 HE 染色试剂盒（北京索莱宝科技有限公司）对切片进行染色。

1.3 实时荧光定量 PCR

采用 RNA 提取试剂盒（湖南艾科瑞生物工程有限公司）提取总 RNA，Nanodrop 2000 超微量分光光度计（Thermo，美国）测定总 RNA 的浓度和纯度，所有样本的光密度（optical density, OD）$_{260}$/OD$_{280}$ 比值为 1.8~2.0。按照 EvoM-MLV 反转录试剂盒（湖南艾科瑞生物工程有限公司）说明书进行反转录。

定量 PCR 操作按照 SYBR Green Premix Pro TaqHS 试剂盒（湖南艾科瑞生物工程有限公司）说明书进行，反应体系（20 μL）：10 μL SYBR Green Premix Pro TaqHS Premix（Rox Plus）、上、下游引物各 0.4 μL、0.5 μL ROX 参比染料、2 μL cDNA 模板、6.7 μL 灭菌用水，引物序列见表 1。应用实时荧光定量 PCR 仪（ABI QuantStudio 6 Flex, ThermoFisher, 美国）进行定量 PCR，循环参数为

95℃预变性 30 s，95℃变性 5 s，55℃、72℃退火延伸 30 s，共 40 个循环。以 GAPDH 为内参，计算双孔 Ct 值均值，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达量。实验独立重复 3 次。

表 1　引物序列

基因	引物序列
NMDAR1	上游: 5'TGGAAGATACAGCTCAACGC3' 下游: 5'AAGTGGTCGTTGGGAGTAGG3'
CB1R	上游: 5'GGACCCAGAAGAGCATCA3' 下游: 5'ATCAACACCACCAGGATCA3'
PSD95	上游: 5'AGCTTCCGCTTCGGGGATGT3' 下游: 5'ACCTTGACCACTCTCGTCGCT3'
SYN	上游: 5'GTCATCGACGAGCCGCACAC3' 下游: 5'CCACGGAGAATCCACCATTGGC3'
GAPDH	上游: 5'ACGGCAAGTTCAACGGCACAG3' 下游: 5'CGACATACTCAGCACCAGCATCAC3'

1.4　蛋白质印迹法

海马标本剪碎后置于 RIPA 裂解液（1% Triton X-100、1% sodium deoxycholate、0.1% SDS），冰上裂解 20 min；粉碎打匀后再次冰上裂解 30 min，4℃、13 000 r/min 离心 10 min，取上清。采用紫外吸收法测定蛋白浓度，按比例加入 5×加样缓冲液后，经 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离，每条泳道上样 30 μg（15 μL），两侧泳道加蛋白 marker。用半干法转蛋白至 PVDF 膜，5% 脱脂奶封闭 1 h 后，加入一抗［兔抗大鼠 NMDAR1（长沙艾碧维生物科技有限公司）、CB1R（Protein Tech，美国为）、PSD95（Protein Tech，美国）（均 1∶500），兔抗 SYN（Protein Tech，美国；1∶200），兔抗大鼠 β-actin（Protein Tech，美国；1∶3 000）］，4℃孵育过夜；用 TBST 洗膜后，加入辣根过氧化物酶标记二抗［山羊抗兔多克隆抗体（Protein Tech，美国）；1∶1 000］，室温孵育 2 h。TBST 洗膜后加 ECL 发光液，数字凝胶成像系统扫描，运用 Image J 软件分析条带灰度值，以目的蛋白与内参蛋白 β-actin 灰度值比值表示目的蛋白相对表达量。实验独立重复 3 次。

1.5　免疫组化染色

取双侧大脑半球制作石蜡切片，经 3% 过氧化氢灭活内源性过氧化物酶、正常山羊血清封闭 1 h 后，滴加一抗［兔抗大鼠 NMDAR1、CB1R（均 1∶500），PSD95（1∶200）、SYN（1∶100）］，4℃孵育过夜；加入辣根过氧化物酶标记二抗（山羊抗兔，1∶1 000），室温孵育 30 min。DAB 显色法显色后树胶封片。于光学显微镜下选取海马区细胞分布均匀的视野（每只大鼠选取 2 个）进行观察。采用 Image J 软件测定平均光密度（average optical density, AOD）值，代表目的蛋白表达水平。

1.6　统计学分析

采用 GraphPad Prism 10.2.3、SPSS 27.0 统计软件进行数据分析，计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，两组间比较采用独立样本 t 检验。$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2　结果

2.1　高氧对新生大鼠海马区病理改变的影响

对照组和高氧组大鼠在实验过程中无死亡，无惊厥发作，无运动异常。HE 染色结果显示，高氧暴露 7 d 时，高氧组海马区神经元密度降低，排列紊乱。见图 1。

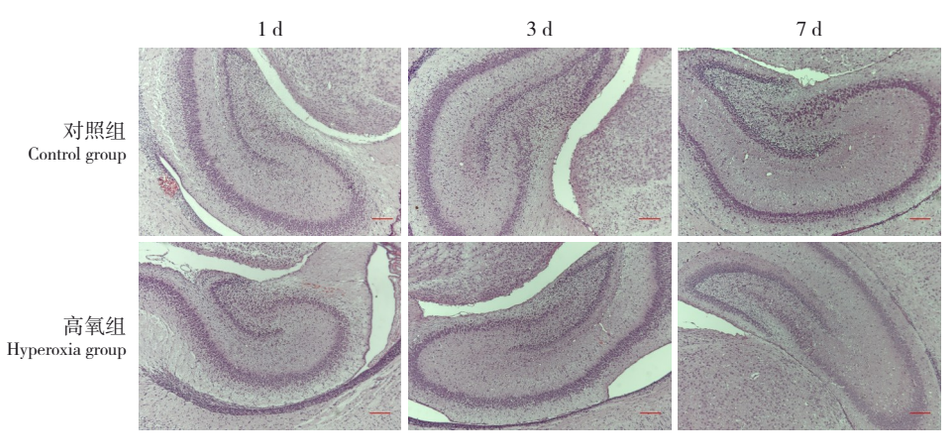


图 1　高氧对新生大鼠海马区病理改变的影响（光学显微镜，×100）　高氧暴露 7 d 时，高氧组海马区神经元密度降低，排列紊乱。

2.2 高氧暴露对新生大鼠海马区 NMDAR1 表达的影响

实时荧光定量 PCR 结果显示，高氧暴露 3 d 时，高氧组 NMDAR1 mRNA 表达水平明显低于对照组（P<0.05）；高氧暴露 1 d、7 d 时，对照组与高氧组 NMDAR1 mRNA 表达水平比较差异无统计学意义（P>0.05）。蛋白质印迹法结果显示，高氧暴露 1 d、3 d 时，高氧组 NMDAR1 蛋白表达水平低于对照组（P<0.05）；高氧暴露 7 d 时，高氧组 NMDAR1 蛋白表达水平高于对照组（P<0.05）。免疫组化结果显示，高氧暴露 1 d、3 d 时，高氧组 NMDAR1 AOD 值低于对照组（P<0.05）；高氧暴露 7 d 时，高氧组 NMDAR1 AOD 值高于对照组（P<0.05）。见表 2、图 2。

表 2 高氧暴露对新生大鼠海马区 NMDAR1 表达水平影响 （$\bar{x} \pm s$）

组别	NMDAR1 mRNA (n=4)			NMDAR1 蛋白 (n=4)			AOD 值 (n=8)		
	1 d	3 d	7 d	1 d	3 d	7 d	1 d	3 d	7 d
对照组	1.04 ± 0.32	1.01 ± 0.13	1.04 ± 0.32	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	45 ± 9	30 ± 6	22 ± 5
高氧组	0.63 ± 0.20	0.71 ± 0.19	0.82 ± 0.23	0.78 ± 0.15	0.88 ± 0.06	1.08 ± 0.06	25 ± 5	23 ± 5	27 ± 4
t值	2.203	2.611	1.111	2.978	3.916	2.899	5.623	2.606	2.201
P值	0.070	0.040	0.309	0.025	0.008	0.027	<0.001	0.021	0.044

注：［NMDAR1］N-甲基-D-天冬氨酸受体 1；［AOD］平均光密度。

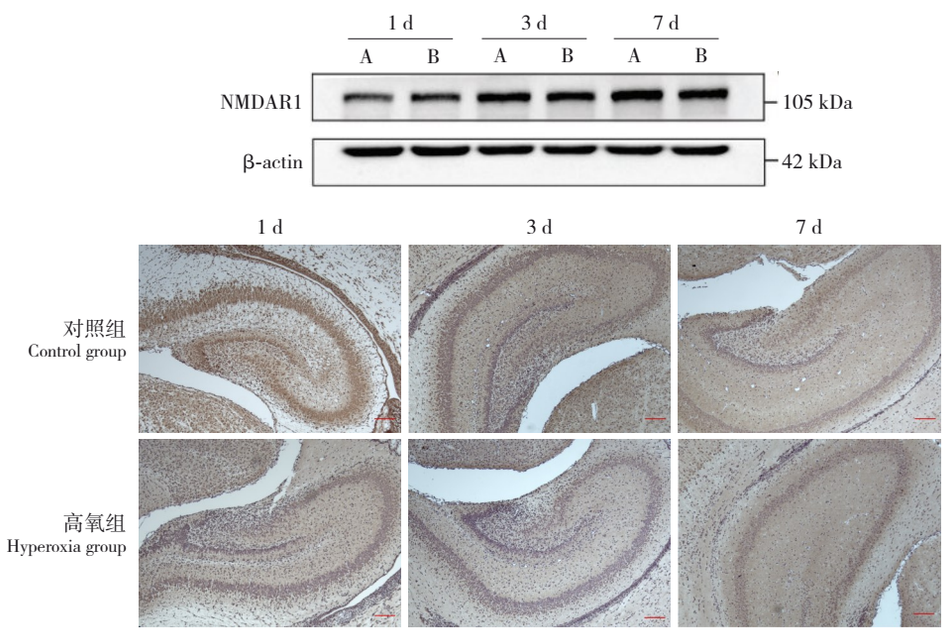


图 2 高氧暴露对新生大鼠海马区 NMDAR1 蛋白表达的影响 上图：蛋白质印迹法检测 NMDAR1 蛋白表达条带图，A 为对照组，B 为高氧组。下图：免疫组化染色检测 NMDAR1 表达（光学显微镜，×100），阳性细胞呈棕黄色，高氧暴露 1 d、3 d 时，高氧组 NMDAR1 表达低于对照组；高氧暴露 7 d 时，高氧组 NMDAR1 表达高于对照组。

2.3 高氧暴露对新生大鼠海马区 CB1R 表达的影响

实时荧光定量 PCR 结果显示，高氧暴露 1 d、3 d 时，高氧组 CB1R mRNA 表达水平低于对照组（P<0.05）；高氧暴露 7 d 时，两组 CB1R mRNA 表达水平比较差异无统计学意义（P>0.05）。蛋白质印迹法结果显示，高氧暴露 1 d、3 d 时，高氧组 CB1R 蛋白表达水平低于对照组（P<0.05）；高氧暴露 7 d 时，高氧组 CB1R 蛋白表达水平高于对照组（P<0.05）。免疫组化结果显示，高氧暴露 1 d、3 d 时，高氧组 CB1R AOD 值低于对照组（P<0.05）；高氧暴露 7 d 时，高氧组 CB1R AOD 值高于对照组（P<0.05）。见表 3、图 3。

表3　高氧暴露对新生大鼠海马区CB1R表达水平的影响　（$\bar{x} \pm s$）

组别	CB1R mRNA（n=4）			CB1R蛋白（n=4）			AOD值（n=8）		
	1 d	3 d	7 d	1 d	3 d	7 d	1 d	3 d	7 d
对照组	1.01 ± 0.13	1.01 ± 0.13	1.06 ± 0.43	1.000 ± 0.000	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	28 ± 5	37 ± 5	26 ± 6
高氧组	0.66 ± 0.06	0.78 ± 0.06	0.91 ± 0.10	0.683 ± 0.008	0.62 ± 0.22	1.43 ± 0.33	22 ± 4	31 ± 3	36 ± 5
t值	4.747	3.188	0.718	76.320	3.505	2.655	2.262	2.590	3.434
P值	0.003	0.019	0.500	<0.0001	0.013	0.038	0.040	0.028	0.004

注：［CB1R］大麻素受体1；［AOD］平均光密度。

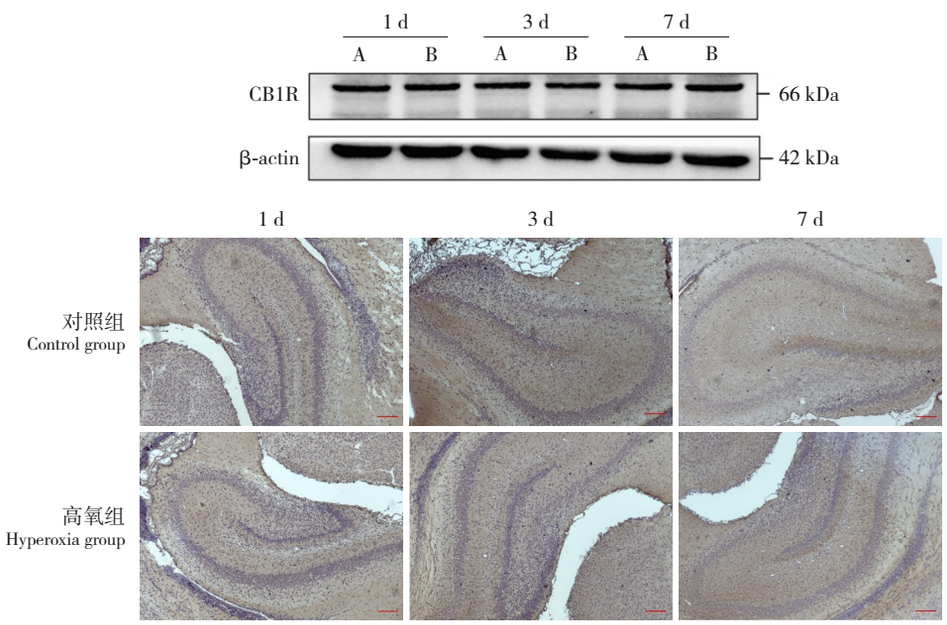


图3　高氧暴露对新生大鼠海马区CB1R蛋白表达的影响　上图：蛋白质印迹法检测CB1R蛋白表达条带图，A为对照组，B为高氧组。下图：免疫组化染色检测CB1R表达（光学显微镜，×100），阳性细胞呈棕黄色，高氧暴露1 d、3 d时，高氧组CB1R表达低于对照组；高氧暴露7 d时，高氧组CB1R表达高于对照组。

2.4　高氧暴露对新生大鼠海马区SYN表达的影响

实时荧光定量PCR结果显示，高氧暴露3 d时，高氧组SYN mRNA表达水平低于对照组（P<0.05），高氧暴露1 d、7 d时，两组SYN mRNA表达水平比较差异无统计学意义（P>0.05）。蛋白质印迹法结果显示，高氧暴露1 d、3 d时，高氧组SYN蛋白表达水平高于对照组（P<0.05）；高氧暴露7 d时，两组SYN蛋白表达水平比较差异无统计学意义（P>0.05）。免疫组化结果显示，3个时间点高氧组SYN AOD值高于对照组（P<0.05）。见表4、图4。

表4　高氧暴露对新生大鼠海马区SYN表达水平的影响　（$\bar{x} \pm s$）

组别	SYN mRNA（n=4）			SYN蛋白（n=4）			AOD值（n=8）		
	1 d	3 d	7 d	1 d	3 d	7 d	1 d	3 d	7 d
对照组	1.00 ± 0.09	1.00 ± 0.10	1.01 ± 0.19	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	8 ± 4	12 ± 4	11 ± 4
高氧组	0.93 ± 0.15	0.65 ± 0.12	0.80 ± 0.15	1.30 ± 0.09	1.55 ± 0.22	1.51 ± 0.59	13 ± 4	17 ± 4	16 ± 4
t值	0.778	4.607	1.769	6.623	4.996	1.717	2.347	2.915	2.473
P值	0.466	0.004	0.127	<0.001	0.003	0.137	0.035	0.011	0.027

注：［SYN］突触素；［AOD］平均光密度。

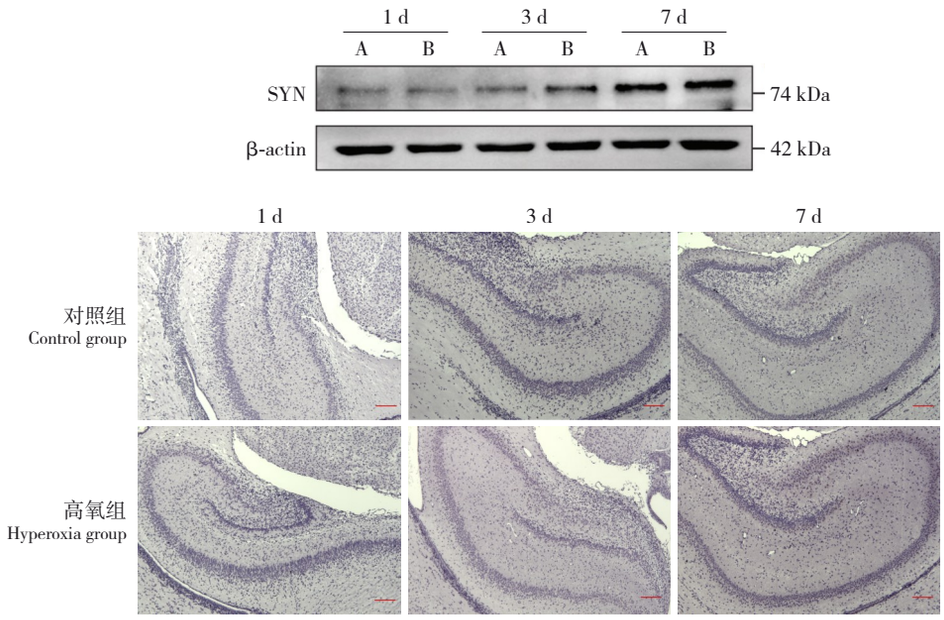


图 4　高氧暴露对新生大鼠海马区 SYN 蛋白表达的影响　上图：蛋白质印迹法检测 SYN 蛋白表达条带图，A 为对照组，B 为高氧组。下图：免疫组化染色检测 SYN 表达（光学显微镜，×100），阳性细胞呈棕黄色，高氧暴露 1、3、7 d 时，高氧组 SYN 表达高于对照组。

2.5　高氧暴露对新生大鼠海马区 PSD95 表达的影响

实时荧光定量 PCR 结果显示，与对照组相比，3 个时间点高氧组 PSD95 mRNA 表达水平比较差异无统计学意义（P>0.05）。蛋白质印迹法结果显示，高氧暴露 3 d 时，高氧组 PSD95 蛋白表达水平高于对照组（P<0.05）；高氧暴露 1 d、7 d 时，两组 PSD95 蛋白表达水平比较差异无统计学意义（P>0.05）。免疫组化结果显示，高氧暴露 3 d、7 d 时，高氧组 PSD95 AOD 值高于对照组（P<0.05），高氧暴露 1 d 时，两组 PSD95 AOD 值比较差异无统计学意义（P>0.05）。见表 5、图 5。

表 5　高氧暴露对新生大鼠海马区 PSD95 表达水平的影响　（$\bar{x} \pm s$）

组别	PSD95 mRNA (n=4)			PSD95 蛋白 (n=4)			AOD 值 (n=8)		
	1 d	3 d	7 d	1 d	3 d	7 d	1 d	3 d	7 d
对照组	1.02 ± 0.21	1.01 ± 0.18	1.03 ± 0.27	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	14 ± 4	13 ± 4	13 ± 4
高氧组	1.02 ± 0.49	0.93 ± 0.12	0.83 ± 0.21	0.76 ± 0.22	1.42 ± 0.20	1.26 ± 0.23	13 ± 4	18 ± 4	19 ± 4
t值	−0.014	0.615	1.181	2.204	4.201	2.281	0.348	2.226	2.851
P值	0.989	0.572	0.282	0.070	0.006	0.061	0.733	0.043	0.013

注：［PSD95］突触后致密物 95；［AOD］平均光密度。

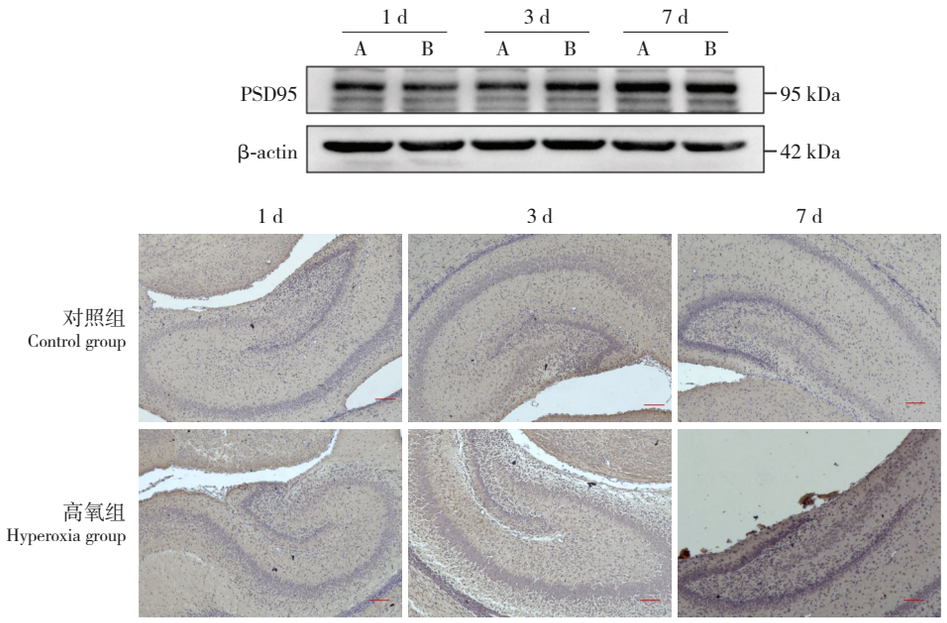


图 5　高氧干预对新生大鼠海马区 PSD95 蛋白表达的影响　上图：蛋白质印迹法检测 PSD95 蛋白表达条带图，A 为对照组，B 为高氧组。下图：免疫组化染色检测 PSD95 表达（光学显微镜，×100），阳性细胞呈棕黄色，高氧暴露 3 d、7 d 时，高氧组 PSD95 表达高于对照组。

3　讨论

高氧对发育中脑的损害，在早产儿中与脑室周围白质软化、颅内出血发生率增高密切相关[7-9]；而足月儿应用高氧复苏时，长期不良神经系统预后的发生率明显高于应用空气复苏者[23]。将体外培养的少突胶质细胞前体细胞暴露于高氧下，其增殖、分化受阻，死亡增加，会导致脑白质发育障碍[24-25]。本研究中，HE 染色结果显示，持续高氧暴露 7 d 时海马区神经元密度明显降低，进一步证实了高氧对发育中脑损伤的影响。

高氧引起发育中脑损伤的机制复杂，目前研究认为氧自由基损伤、发育中脑抗氧化能力不足、炎症过程、细胞活动及基因表达调控的异常等均可能参与其中[26-28]。研究发现，NMDAR1 及其突触相关分子在对高氧敏感的海马区表达，与兴奋性突触功能、脑发育及脑功能密切相关[29-31]。在发育中的海马区，突触前膜释放谷氨酸，可激活突触后膜的 NMDAR1，诱导突触后电位产生。同时，NMDAR1 激活会使突触后膜内环氧化酶-2 表达上调，后者催化花生四烯醇甘油产生内源性大麻素；内源性大麻素通过突触前膜的 CB1R，下调细胞内钙离子浓度，从而抑制谷氨酸释放，负反馈调节 NMDAR1 活性[32-33]。研究表明，当 NMDAR1 表达低下或功能受抑时，会损害认知功能，引发癫痫发作、神经系统炎症等[34-37]，而 NMDAR1 过度激活时，会引发精神疾病、亨廷顿舞蹈病等，导致肌肉协调能力和认知能力下降，造成不可逆的脑损伤[38-39]。生理状态下，CB1R 的表达可增强情绪与学习的可塑性[40]，而 CB1R 过度激活则可能影响 N-甲基-D-天冬氨酸（N-methyl-D-aspartate, NMDA）能突触的持续重塑，扰乱大脑的发育与成熟[41]。本研究显示，高氧暴露 1 d 和 3 d 时，新生大鼠海马区 NMDAR1 蛋白表达下调，这会抑制 NMDAR1 的功能；但不排除在高氧暴露下，谷氨酸释放增加可过度激活突触后膜的 NMDAR1 并产生兴奋毒性损害，机体通过下调 NMDAR1 的表达以减轻损害。高氧暴露 1 d 和 3 d 时，CB1R 蛋白和 mRNA 表达下调，可能是机体对 NMDA 能突触功能的自我调节。高氧暴露 7 d 时，NMDAR1 和 CB1R 蛋白表达同步上调，可能为代偿性调整。

SYN 是存在于轴突末梢的纤维状磷酸蛋白，与突触小泡之间及突触小泡与细胞骨架之间的交联相关，可促进突触前膜谷氨酸突触囊泡的运动和释放，进而调控突触功能[42]。本研究显示，高氧暴露 1 d 和 3 d 时，SYN 蛋白表达上调，这会促进突触前膜释放谷氨酸，其意义与 CB1R 蛋白表达下调相似，即通过促进谷氨酸释放，拮抗因 NMDAR1 下调导致的 NMDA 能突触功能降低。

PSD95 蛋白主要定位于神经元突触后膜的 PSD

区，通过与突触后膜的NMDAR1结合，调节抑制性和兴奋性突触数量的平衡，增加突触稳定性，是突触成熟的关键调节因子[43]。本研究发现，高氧暴露3 d时，PSD95蛋白表达上调，但由于NMDAR1表达下调，其未必能增强突触功能；此外，PSD95蛋白还可与其他蛋白质相互作用，形成信号复合物，从而调控突触功能。

研究发现，上述分子除参与调节突触功能外，还可通过调控突触可塑性参与海马区的正常发育，且这一过程具有时空特异性[44-45]。本研究发现，长期高氧暴露可改变上述蛋白的表达水平，其是否会对脑发育产生长期影响，仍需进一步深入研究。

本研究中，高氧暴露下新生大鼠海马区NMDAR1、CB1R、PSD95及SYN的mRNA与蛋白表达在相同时间点变化不完全一致，这可能因高氧对这些分子的影响不仅作用于转录水平，还涉及mRNA翻译及修饰过程，体现其对脑内蛋白表达调节的复杂性；亦可能因所选时间点局限导致结果偏倚。

综上所述，持续高氧暴露可影响新生大鼠海马区NMDAR1及其突触相关分子CB1R、PSD95及SYN的表达，且呈时间依赖性，这一变化可能参与高氧所致的发育期脑损伤，提示应避免发育中脑组织长期处于高氧环境。

［参　考　文　献］

[1] Bitterman H. Bench-to-bedside review: oxygen as a drug[J]. Crit Care, 2009, 13(1): 205. PMID: 19291278. PMCID: PMC2688103. DOI: 10.1186/cc7151.

[2] Girardis M, Busani S, Damiani E, et al. Effect of conservative vs conventional oxygen therapy on mortality among patients in an intensive care unit: the oxygen-ICU randomized clinical trial[J]. JAMA, 2016, 316(15): 1583-1589. PMID: 27706466. DOI: 10.1001/jama.2016.11993.

[3] Scheuer T, dem Brinke EA, Grosser S, et al. Reduction of cortical parvalbumin-expressing GABAergic interneurons in a rodent hyperoxia model of preterm birth brain injury with deficits in social behavior and cognition[J]. Development, 2021, 148(20): dev198390. PMID: 34557899. DOI: 10.1242/dev.198390.

[4] Damiani E, Donati A, Girardis M. Oxygen in the critically ill: friend or foe?[J]. Curr Opin Anaesthesiol, 2018, 31(2): 129-135. PMID: 29334496. DOI: 10.1097/ACO.0000000000000559.

[5] Martin J, Mazer-Amirshahi M, Pourmand A. The impact of hyperoxia in the critically ill patient: a review of the literature[J]. Respir Care, 2020, 65(8): 1202-1210. PMID: 32047122. DOI: 10.4187/respcare.07310.

[6] Hong JY, Kim MN, Kim EG, et al. Clusterin deficiency exacerbates hyperoxia-induced acute lung injury[J]. Cells, 2021, 10(4): 944. PMID: 33921872. PMCID: PMC8073575. DOI: 10.3390/cells10040944.

[7] Oltman SP, Rogers EE, Baer RJ, et al. Initial metabolic profiles are associated with 7-day survival among infants born at 22-25 weeks of gestation[J]. J Pediatr, 2018, 198: 194-200.e3. PMID: 29661562. PMCID: PMC6016556. DOI: 10.1016/j.jpeds.2018.03.032.

[8] Scheuer T, Sharkovska Y, Tarabykin V, et al. Neonatal hyperoxia perturbs neuronal development in the cerebellum[J]. Mol Neurobiol, 2018, 55(5): 3901-3915. PMID: 28547531. DOI: 10.1007/s12035-017-0612-5.

[9] Panfoli I, Candiano G, Malova M, et al. Oxidative stress as a primary risk factor for brain damage in preterm newborns[J]. Front Pediatr, 2018, 6: 369. PMID: 30555809. PMCID: PMC6281966. DOI: 10.3389/fped.2018.00369.

[10] Smith MS. Working with working memory and language[J]. Second Lang Res, 2017, 33(3): 291-297. DOI: 10.1177/0267658317719315.

[11] Witter MP, Kleven H, Kobro Flatmoen A. Comparative contemplations on the hippocampus[J]. Brain Behav Evol, 2017, 90(1): 15-24. PMID: 28866678. DOI: 10.1159/000475703.

[12] 陈艳林, 徐琳, 徐盛嘉. 身体活动对海马体可塑性和认知功能的影响[J]. 中国组织工程研究, 2020, 24(5): 773-779. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.1915.

[13] Xia YW, Liu T, Zhang RL, et al. MicroRNA expression profiles in the neonatal rat hippocampus exposed to normobaric hyperoxia[J]. Open J Pediatr, 2024, 14(6): 1038-1049. DOI: 10.4236/ojped.2024.146098.

[14] Gonzalez KC, Negrean A, Liao Z, et al. Synaptic basis of feature selectivity in hippocampal neurons[J]. Nature, 2025, 637(8048): 1152-1160. PMID: 39695232. PMCID: PMC11988941. DOI: 10.1038/s41586-024-08325-9.

[15] Ruggiero A, Heim LR, Susman L, et al. NMDA receptors regulate the firing rate set point of hippocampal circuits without altering single-cell dynamics[J]. Neuron, 2025, 113(2): 244-259.e7. PMID: 39515323. DOI: 10.1016/j.neuron.2024.10.014.

[16] Tzilivaki A, Tukker JJ, Maier N, et al. Hippocampal GABAergic interneurons and memory[J]. Neuron, 2023, 111(20): 3154-3175. PMID: 37467748. PMCID: PMC10593603. DOI: 10.1016/j.neuron.2023.06.016.

[17] Dupuis JP, Nicole O, Groc L. NMDA receptor functions in health and disease: old actor, new dimensions[J]. Neuron, 2023, 111(15): 2312-2328. PMID: 37236178. DOI: 10.1016/j.neuron.2023.05.002.

[18] McEachern EP, Coley AA, Yang SS, et al. PSD-95 deficiency alters GABAergic inhibition in the prefrontal cortex[J]. Neuropharmacology, 2020, 179: 108277. PMID: 32818520. PMCID: PMC7572776. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2020.108277.

[19] Al N, Çakir A, Koç C, et al. Antioxidative effects of uridine in a neonatal rat model of hyperoxic brain injury[J]. Turk J Med Sci, 2020, 50(8): 2059-2066. PMID: 32490647. DOI: 10.3906/sag-2002-14.

[20] Lin X, Zhou M, Wang H. A rat model establishment of bronchopulmonary dysplasia-related lung & brain injury within

28 days after birth[J]. BMC Neurosci, 2024, 25(1): 73. PMID: 39609737. PMCID: PMC11603889.
DOI: 10.1186/s12868-024-00912-w.

[21] 宋朝敏, 王程毅, 陈涵强, 等. 新生大鼠高氧脑损伤的评价研究[J]. 中国新生儿科杂志, 2014, 29(1): 54-57.
DOI: 10.3969/j.issn.1673-6710.2014.01.014.

[22] 刘永青, 赵钰玮, 张健, 等. 硫酸镁对高氧脑损伤新生大鼠的神经保护作用[J]. 广西医学, 2021, 43(6): 707-710.
DOI: 10.11675/j.issn.0253-4304.2021.06.14.

[23] El-Farrash RA, El Shimy MS, El-Sakka AS, et al. Efficacy and safety of oral paracetamol versus oral ibuprofen for closure of patent ductus arteriosus in preterm infants: a randomized controlled trial[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2019, 32(21): 3647-3654. PMID: 29695206.
DOI: 10.1080/14767058.2018.1470235.

[24] van Bel F, Mintzer JP. Monitoring cerebral oxygenation of the immature brain: a neuroprotective strategy? [J]. Pediatr Res, 2018, 84(2): 159-164. PMID: 29907853.
DOI: 10.1038/s41390-018-0026-8.

[25] Ali A, Zambrano R, Duncan MR, et al. Author correction: hyperoxia-activated circulating extracellular vesicles induce lung and brain injury in neonatal rats[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 20229. PMID: 34615985. PMCID: PMC8494818.
DOI: 10.1038/s41598-021-99450-2.

[26] 田桂湘, 彭坷平, 薄涛, 等. 高氧损伤性星形胶质细胞焦亡过程的电生理变化特征[J]. 中南大学学报（医学版）, 2020, 45(7): 759-765. PMID: 32879078.
DOI: 10.11817/j.issn.1672-7347.2020.200029.

[27] Reich B, Hoeber D, Bendix I, et al. Hyperoxia and the immature brain[J]. Dev Neurosci, 2016, 38(5): 311-330. PMID: 28152539.
DOI: 10.1159/000454917.

[28] Liu Y, Jiang P, Du M, et al. Hyperoxia-induced immature brain injury through the TLR4 signaling pathway in newborn mice[J]. Brain Res, 2015, 1610: 51-60. PMID: 25801121.
DOI: 10.1016/j.brainres.2015.03.021.

[29] Mizuno R, Kawada K, Sakai Y. Prostaglandin E2/EP signaling in the tumor microenvironment of colorectal cancer[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(24): 6254. PMID: 31835815. PMCID: PMC6940958. DOI: 10.3390/ijms20246254.

[30] Xu Y, Liu Y, Li K, et al. Regulation of PGE2 pathway during cerebral ischemia reperfusion injury in rat[J]. Cell Mol Neurobiol, 2021, 41(7): 1483-1496. PMID: 32621176. PMCID: PMC11448554. DOI: 10.1007/s10571-020-00911-5.

[31] Banik A, Amaradhi R, Lee D, et al. Prostaglandin EP2 receptor antagonist ameliorates neuroinflammation in a two-hit mouse model of Alzheimer's disease[J]. J Neuroinflammation, 2021, 18 (1): 273. PMID: 34801055. PMCID: PMC8605573.
DOI: 10.1186/s12974-021-02297-7.

[32] Gonzalez J, Jurado-Coronel JC, Ávila MF, et al. NMDARs in neurological diseases: a potential therapeutic target[J]. Int J Neurosci, 2015, 125(5): 315-327. PMID: 25051426.
DOI: 10.3109/00207454.2014.940941.

[33] Zhang J, Chen C. Endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol protects neurons by limiting COX-2 elevation[J]. J Biol Chem, 2008, 283(33): 22601-22611. PMID: 18534982. PMCID: PMC2504873. DOI: 10.1074/jbc.M800524200.

[34] Zhou Q, Sheng M. NMDA receptors in nervous system diseases [J]. Neuropharmacology, 2013, 74: 69-75. PMID: 23583930. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2013.03.030.

[35] Herzog LE, Wang L, Yu E, et al. Mouse mutants in schizophrenia risk genes *GRIN2A* and *AKAP11* show EEG abnormalities in common with schizophrenia patients[J]. Transl Psychiatry, 2023, 13(1): 92. PMID: 36914641. PMCID: PMC10011509. DOI: 10.1038/s41398-023-02393-7.

[36] Dalmau J. NMDA receptor encephalitis and other antibody-mediated disorders of the synapse: the 2016 Cotzias Lecture[J]. Neurology, 2016, 87(23): 2471-2482. PMID: 27920282. PMCID: PMC5177671.
DOI: 10.1212/WNL.0000000000003414.

[37] Wu CY, Wu JD, Chen CC. The association of ovarian teratoma and anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis: an updated integrative review[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(20): 10911. PMID: 34681570. PMCID: PMC8535897.
DOI: 10.3390/ijms222010911.

[38] Su T, Lu Y, Fu C, et al. GluN2A mediates ketamine-induced rapid antidepressant-like responses[J]. Nat Neurosci, 2023, 26(10): 1751-1761. PMID: 37709995.
DOI: 10.1038/s41593-023-01436-y.

[39] Wang R, Reddy PH. Role of glutamate and NMDA receptors in Alzheimer's disease[J]. J Alzheimers Dis, 2017, 57(4): 1041-1048. PMID: 27662322. PMCID: PMC5791143.
DOI: 10.3233/JAD-160763.

[40] Lafourcade M, Elezgarai I, Mato S, et al. Molecular components and functions of the endocannabinoid system in mouse prefrontal cortex[J]. PLoS One, 2007, 2(8): e709. PMID: 17684555. PMCID: PMC1933592.
DOI: 10.1371/journal.pone.0000709.

[41] Molla HM, Tseng KY. Neural substrates underlying the negative impact of cannabinoid exposure during adolescence[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2020, 195: 172965. PMID: 32526217. PMCID: PMC7415707.
DOI: 10.1016/j.pbb.2020.172965.

[42] Kwon SE, Chapman ER. Synaptophysin regulates the kinetics of synaptic vesicle endocytosis in central neurons[J]. Neuron, 2011, 70(5): 847-854. PMID: 21658579. PMCID: PMC3136197.
DOI: 10.1016/j.neuron.2011.04.001.

[43] El-Husseini AE, Schnell E, Chetkovich DM, et al. PSD-95 involvement in maturation of excitatory synapses[J]. Science, 2000, 290(5495): 1364-1368. PMID: 11082065.
DOI: 10.1126/science.290.5495.1364.

[44] Martinez G, Di Giacomo C, Carnazza ML, et al. MAP2, synaptophysin immunostaining in rat brain and behavioral modifications after cerebral postischemic reperfusion[J]. Dev Neurosci, 1997, 19(6): 457-464. PMID: 9445083.
DOI: 10.1159/000111243.

[45] Levy AM, Gomez-Puertas P, Tümer Z. Neurodevelopmental disorders associated with PSD-95 and its interaction partners[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(8): 4390. PMID: 35457207. PMCID: PMC9025546. DOI: 10.3390/ijms23084390.

（本文编辑：杨丹）

（版权所有©2025 中国当代儿科杂志）