

大鼠皮质星形胶质细胞尼古丁型乙酰胆碱受体的表达

孔欣¹ 禹文峰² 官志忠^{1,2*}

(¹贵州医科大学病理学教研室, 贵阳 550004; ²贵州医科大学, 医学分子生物学重点实验室, 贵阳 550004)

摘要 该文研究了尼古丁型乙酰胆碱受体(nicotinic acetylcholine receptors, nAChRs)不同亚单位在大鼠大脑星形胶质细胞的表达情况。分离新生大鼠大脑皮质培养原代星形胶质细胞并纯化、传代鉴定后, 运用RT-PCR方法、蛋白质印迹法检测正常大鼠大脑皮质星形胶质细胞nAChRs不同亚单位的表达情况。结果显示, $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 、 $\alpha 7$ 、 $\beta 2$ 等nAChRs亚单位在星形胶质细胞均有表达, 而 $\beta 3$ nAChRs亚单位在星形胶质细胞没有表达, 为深入研究星形胶质细胞的功能提供了可能。

关键词 星形胶质细胞; 尼古丁型乙酰胆碱受体; 神经保护

Expression of Nicotinic Acetylcholine Receptors on Primary Culture of Rat Astrocytes

Kong Xin¹, Yu Wenfeng², Guan Zhizhong^{1,2*}

(¹The Department of Pathology, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China;

²The Key Lab of Medical Molecular Biology, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China)

Abstract This work was aimed to investigate the expression of different subunits of the nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) on primary culture of rat astrocytes. Primary culture of rat astrocytes were prepared from the cortex and hippocampus of the brains of newborn Sprague-Dawley (SD) rats. The mRNA and protein levels of individual nAChR subunits in primary cultured astrocytes of rat were examined by RT-PCR and Western blot. The $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\alpha 4$, $\alpha 7$ and $\beta 2$ nAChR subunits were found in the primary cultured astrocytes while the $\beta 3$ nAChR subunit was not presented, which provide some evidence for further function study of astrocytic nAChRs.

Keywords astrocytes; nAChRs; neuroprotection

星形胶质细胞作为数量最多、分布最广、体积最大的一类胶质细胞类型, 广泛分布于哺乳动物中枢神经系统(central nervous system, CNS), 并且在CNS神经细胞的发育过程中发挥了重要的功能, 参与认知功能等大脑高级活动^[1]。近年来, 研究发现, 星形胶质细胞可通过细胞表面的受体, 如清道夫

受体^[2]、Toll样受体^[3]及其介导的信号转导通路, 产生和释放神经毒性物质。尼古丁型乙酰胆碱受体(nicotinic acetylcholine receptors, nAChRs)亚单位在CNS发挥重要的生理功能, 它广泛分布于整个脑内, 在大脑内参与认知、记忆、学习等重要功能, 调节多种其他受体的功能, 并具有抵抗细胞毒性的神经

收稿日期: 2015-12-22 接受日期: 2016-03-10

国家自然科学基金(批准号: 81260173)、教育部科学技术研究项目(批准号: 2013032A)、贵州省科技厅国际合作项目(批准号: 黔科合外G字[2011]7014号)和贵州省科技计划(批准号: 黔科合重大专项字[2014]6008号)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0851-86761697, E-mail: 1457658298@qq.com

Received: December 22, 2015 Accepted: March 10, 2016

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81260173), the Scientific Research Project Fund of Ministry of Education (Grant No.2013032A), the International Cooperative Project of Science and Technology Department of Guizhou Province (Grant No.[2011]7014) and the Science and Technology Plan of Guizhou Province (Grant No.[2014]6008)

*Corresponding author. Tel: +86-851-86761697, E-mail: 1457658298@qq.com

网络出版时间: 2016-04-14 15:43:44

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20160414.1543.004.html>

保护作用^[4-5]。研究发现,星形胶质细胞nAChRs能够使星形胶质细胞去极化,细胞内Ca²⁺增加, Ca²⁺通过电波可传递至邻近星形胶质细胞内,从而促进神经递质传导以及突触信号的传递^[6-8]。但是星形胶质细胞nAChRs亚单位的表达情况却少有相关报道^[9]。因此,本文旨在通过研究正常新生大鼠脑星形胶质细胞内nAChRs不同亚单位的表达情况,为深入研究星形胶质细胞的生理功能以及在神经退行性疾病中的病理作用提供方向。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

新生24 h的SD(Sprague-Dawley)大鼠由贵州医科大学动物实验中心提供。

1.2 试剂及仪器

Trizol总RNA提取试剂购自Invitrogen公司。DNA反转录试剂盒、BCA蛋白质浓度测定试剂盒购自Thermo公司。引物序列见表1,由上海捷瑞公司合成。预混PCR反应体系、DNA Marker D5000购自GenStar公司。GFAP兔抗牛多克隆抗体购自Dako公司。CD11b鼠单克隆抗体购自Sigma公司。Cy3标记的羊抗兔IgG购自碧云天生物技术研究so。尼古丁受体亚型 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 、 $\alpha 7$ 、 $\beta 2$ 兔多克隆抗体及 $\beta 3$ 羊多克隆抗体均购自Santa Cruz公司。辣根过氧化物酶(HRP)标记的抗兔二抗购自碧云天生物技术研究so。HRP标记的抗羊二抗购自Santa Cruz公司。一抗、二抗稀释液、封闭液购自碧云天生物技术研究so。聚乙烯二氟(PVDF)膜、ECL-Plus发光试剂购自Millipore公司。高效显影胶片购自柯达公司。

实验所用仪器有:电泳仪(上海六一仪器厂)、CO₂培养箱(日本SANYO公司)、高速离心机(德国Eppendorf公司)、-80 °C冰箱(Thermo公司)、PCR扩增仪(美国ABI公司)。

1.3 原代星形胶质细胞培养

参照Mc Carthy等^[10]和Schildge等^[11]的方法并改进。取新生24 h内SD大鼠,浸泡于75%的医用酒精内5 min消毒并断头,沿着“人字缝”剪开头骨取两侧大脑。去除中脑、小脑并分离出两侧的大脑皮质,将大脑皮质放置于装有已预冷的DMEM培养基的无菌培养皿内,将脑膜和血管剥离,用DMEM培养基漂洗2次。移动大脑皮质至新的加入培养基的无菌培养皿内,将组织剪碎,吸入离心管内,加入10倍体积

量的胰蛋白酶消化15 min,1 000 r/min离心5 min,小心弃掉上清液,加入含10% FBS的DMEM培养基终止消化,吹打制成细胞悬液,接种至25 cm²培养瓶。37 °C、5% CO₂培养箱培养,24 h后换液1次,随后3~4 d换液,至细胞长满。培养7~9 d后,将细胞进行纯化,将细胞瓶封口后放入恒温摇床,37 °C、250 r/min振荡6 h,纯化后继续换液培养,细胞长满瓶底后传代培养。将培养基弃去,用PBS清洗3次,在培养瓶内加入1 mL的胰蛋白酶、放入37 °C、5% CO₂培养箱内消化约1 min,镜下观察细胞形态变圆、大量细胞悬浮,此时,加入等量含有10% FBS的DMEM终止消化,使用移液管将细胞瓶内液体全部吸入离心管,1 000 r/min离心5 min,弃掉上清液,重新加入新鲜带血清的培养基,用移液管轻柔吹打制成细胞悬液,均匀接种至25 cm²培养瓶。37 °C、5% CO₂培养箱培养,24 h后换液1次,随后每隔3~4 d换液,直至细胞长满。按照上述方法继续传代。星形胶质细胞传3~4代后,纯度将会提高。

1.4 星形胶质细胞的免疫荧光鉴定

胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)是星形胶质细胞的特征性标记物。传代后,以GFAP细胞免疫荧光的方法对星形胶质细胞进行染色鉴定。按照上述方法消化后吹打成细胞悬液,将细胞以 5×10^5 /mL的密度接种于6孔板内,2~3 d后待细胞长满,PBS清洗3次,每次5 min,室温晾干。4%多聚甲醛固定20 min后,PBS清洗3次,每次5 min,室温晾干。接着加入0.5% Triton X-100室温透膜20 min,PBS洗3次,每次5 min,室温晾干。10%山羊血清室温下封闭30 min,弃掉山羊血清并用PBS洗3次后晾干,每孔加入500 μ L GFAP和CD11b(1:200),阴性对照组用PBS作为一抗,4 °C过夜。回收一抗,PBS洗3次,每次5 min,室温晾干。每孔加入500 μ L的Cy3羊抗兔IgG(1:200),避光室温孵育1 h,回收二抗,PBS洗3次后晾干,置于倒置显微镜下观察并采集图片。

1.5 RT-PCR方法检测星形胶质细胞内受体表达

将培养好的星形胶质细胞纯化、传代并鉴定后,用PBS小心清洗,按照TRIZOL试剂盒的说明,加入1 mL TRIZOL试剂,吹打成细胞悬液。加入200 μ L氯仿,剧烈震荡15 s,室温放置2~3 min,4 °C、12 000 r/min离心15 min。可见上下分层明显。小心提取上清液。加入等量异丙醇,上下颠倒混匀,静置10 min,4 °C、12 000 r/min离心10 min,弃掉上清。加

表1 nAChRs不同亚单位的引物序列
Table 1 Primers sequences of different nAChRs subunits

基因 Gene	引物序列 Primer sequence	产物(bp) Product (bp)
$\alpha 2$	Upper: 5'-TGA AGG ACT ACT GGG AGA GT-3'	263
	Lower: 5'-GAC AGT GAG AGA TAG CAG CA-3'	
$\alpha 3$	Upper: 5'-CTC ACT GTG CTT GTC TTC TAC-3'	233
	Lower: 5'-GTG GTT GGA GTT CTA TAG TGC-3'	
$\alpha 4$	Upper: 5'-CTG CCG CTA TTC TAC ACC AT-3'	394
	Lower: 5'-CAA TAA GTC TCC GGC AGT TG-3'	
$\alpha 7$	Upper: 5'-CAT CAT CTG TAC CAT CGG CA-3'	128
	Lower: 5'-CCA ATT CTC ACC CTC CAG AT-3'	
$\beta 2$	Upper: 5'-GGA GTG GGA AGA TTA CCG CCT CA-3'	407
	Lower: 5'-AGT CGT CGT GGT TCT CGT TGC G-3'	
$\beta 3$	Upper: 5'-CAG AGC CAT GCA ATC GTA GT-3'	189
	Lower: 5'-GAT GAG CAG AGG GAG TAG TT-3'	
<i>Cyclo-philin</i>	Upper: 5'-GAC AAG GTC CCA AAG ACA GC-3'	235
	Lower: 5'-GTC CAG CAT TTG CCA TGG AC-3'	

入用DEPC水配置的70%乙醇1 mL, 洗涤1次后, 4 °C、7 500 r/min离心5 min, 弃上清后, 干燥10 min。加入30 μ L DEPC水充分溶解沉淀。将提取好的RNA用紫外分光光度计定量检测后, 应用逆转录试剂盒, 提取5 μ g的总RNA合成第一链cDNA。按照试剂盒要求, 依次加入模板RNA、引物oligo(dT)₁₈引物、无核酸酶、高纯水, 混匀后, 65 °C水浴5 min, 置于冰上冷却。接着按顺序另加入其他试剂至总体积为20 μ L。轻轻混匀后离心。PCR扩增条件为: 42 °C、60 min, 70 °C、5 min, 终止反应, -80 °C保存。PCR反应体系为20 μ L, 模板、上下游引物各1 μ L、mix液10 μ L、高纯水7 μ L。PCR反应条件为: 94 °C预变性2 min; 94 °C变性30 s, 58 °C($\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 、 $\alpha 7$)、60 °C($\alpha 2$)、65 °C($\beta 2$ 、 $\beta 3$)退火45 s, *Cyclo-philin*为内参基因, 退火温度可随受体不同亚型改变, 72 °C延伸45 s, 循环30次; 最后72 °C再次延伸7 min。PCR产物经1.5%琼脂糖凝胶电泳(DNA染料为溴化乙锭)后, 在凝胶成像仪上扫描并记录结果。

1.6 序列比对分析

将 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 的PCR扩增产物电泳鉴定后切胶纯化, 送上海立菲(Life technologies)生物技术有限公司进行测序。将获得的基因序列在GenBank数据库进行Blast比对分析。

1.7 蛋白质印迹法检测星形胶质细胞内nAChRs亚单位的表达

提取星形胶质细胞的总蛋白并测定蛋白浓度。

将样品煮沸变性后, 加入至10%的SDS-PAGE胶的孔中, 电泳。接着将胶上的条带转至PVDF膜上。转膜成功后, 将膜封闭2 h。用稀释后的一抗($\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 、 $\alpha 7$ 、 $\beta 2$ 、 $\beta 3$)4 °C孵育过夜后, 再加入二抗在摇床上摇1 h。每次进行下一步时, 都要用含0.1%的吐温-20的TBST清洗干净, 每次5 min, 洗3~4次。最后用ECL发光试剂观察表达情况。

2 结果

2.1 星形胶质细胞免疫荧光鉴定

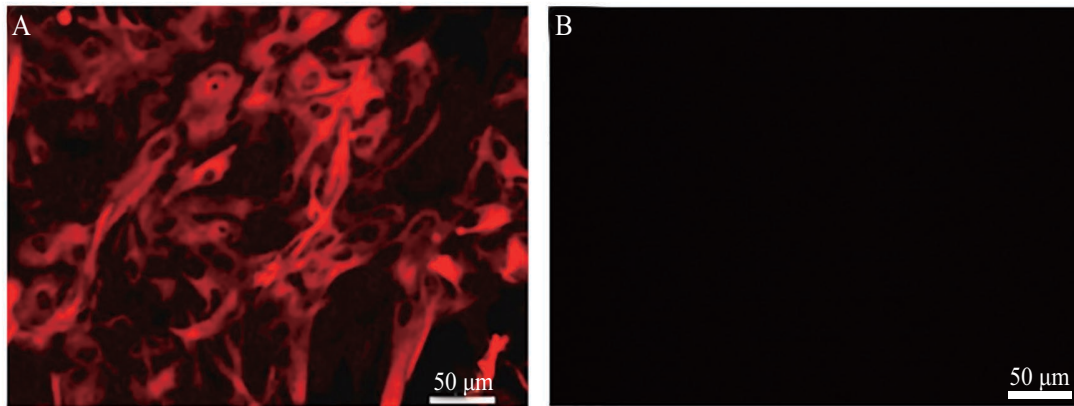
细胞传至3~4代后, 以GFAP和CD11b免疫荧光的方法对星形胶质细胞进行染色, 在倒置显微镜下观察, 以Cy3标记的GFAP阳性细胞呈红色, 而以FITC标记的CD11b阳性细胞未检测到(图1A); 采用相同步骤但未加入一抗GFAP和CD11b, 作为阴性对照未检测出任何结果(图1B)。细胞计数星形胶质细胞占有所有细胞的95%以上, 可用于后续实验。

2.2 星形胶质细胞内nAChRs亚单位mRNA水平的表达情况

提取大鼠乳鼠大脑皮质的星形胶质细胞RNA并逆转录为cDNA。PCR扩增后, 检测发现, 在mRNA水平, 星形胶质细胞内nAChRs亚单位中有 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 、 $\alpha 7$ 、 $\beta 2$ 的表达, 而nAChR $\beta 3$ 并未检测到(图2)。

2.3 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 序列分析

将测序结果在GenBank数据库进行Blast比对分

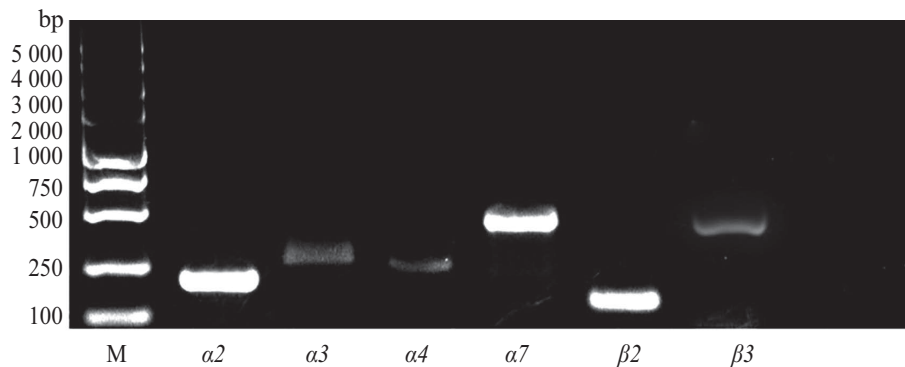


A: 纯化、传代后的星形胶质细胞GFAP细胞免疫荧光显色; B: 同样步骤但未加入一抗GFAP和CD11b抗体(阴性对照)。

A: immunostaining purified and passaged astrocytes with GFAP; B: immunostaining with the same procedure but without the anti-GFAP antibody and CD11b (as a negative control).

图1 星形胶质细胞免疫荧光鉴定

Fig.1 Immunofluorescence identification of astrocytes



M: DNA marker D5000.

图2 星形胶质细胞内nAChRs不同亚单位的表达情况

Fig.2 Expression of different nAChR subunits in astrocytes

析。测序结果显示,大鼠 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 的DNA序列相似率均大于99%以上,证明星形胶质细胞内有 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 亚单位的表达(图3)。

2.4 星形胶质细胞内nAChRs亚单位的蛋白表达情况

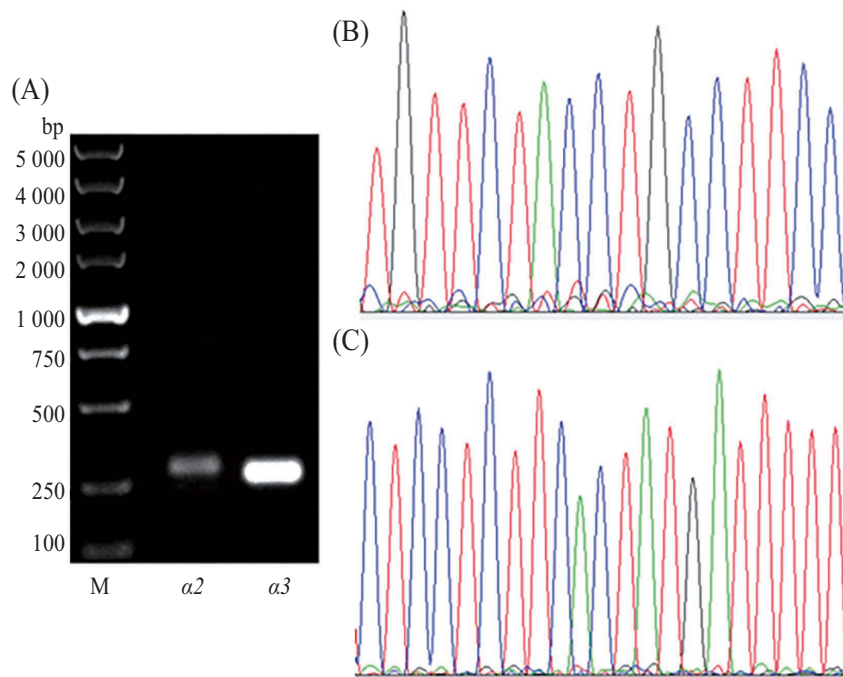
Western blot法检测提取的细胞总蛋白,结果表明,在蛋白水平,nAChR的 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 、 $\alpha 7$ 、 $\beta 2$ 等亚单位在星形胶质细胞上有表达;而nAChR $\beta 3$ 亚单位未被检测到(图4)。星形胶质细胞内nAChRs亚单位表达情况,在蛋白水平与mRNA水平的结果相一致。

3 讨论

在中枢神经系统内,神经胶质细胞数量是神经细胞的10~50倍,其中,星形胶质细胞分布最广泛。除了能够营养支持和调控神经系统微环境外,它的作用还包括促进神经细胞的生成和成熟^[12],摄取、

灭活和供给神经递质,营养修复,抗氧化,形成和维持血脑屏障等。近期,在星形胶质细胞的胶质传递功能和突触形态学的研究中,发现星形胶质细胞对于突触功能也有影响^[13]。星形胶质细胞能够维持脑内平衡以及神经细胞的代谢。它是脑内胆固醇的主要来源,可以释放载脂蛋白E-胆固醇复合物来促进轴突生长和突触形成^[14],对突触的修复和定型起着重要作用^[15]。

胆碱能受体系统是体内最重要、最经典的神经传导通路之一,在神经系统内具有认知功能,胆碱能受体的缺失和失调会引起神经退行性疾病^[16-17]。根据其药理学反应特性不同,分为毒蕈碱型乙酰胆碱受体(muscarinic acetylcholine receptors, mAChRs)和nAChRs。nAChRs属于配体门控离子通道系统,响应乙酰胆碱神经递质的结合。它是由五聚体构成的蛋白质,含有多种亚单位。目前研究发现,



A: 星形胶质细胞内 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 亚单位扩增产物电泳图; B: $\alpha 2$ 亚单位部分序列测序峰图; C: $\alpha 3$ 亚单位部分序列测序峰图。M: DNA marker D5000。
A: electrophoresis map of $\alpha 2$ and $\alpha 3$ nAChR subunits amplified product in astrocytes; B: sequencing map of $\alpha 2$ subunit; C: sequencing map of $\alpha 3$ subunit. M: DNA marker D5000.

图3 星形胶质细胞 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 亚单位电泳图及序列测定

Fig.3 Electrophoresis map of $\alpha 2$ and $\alpha 3$ nAChR subunits in astrocytes and sequence identification

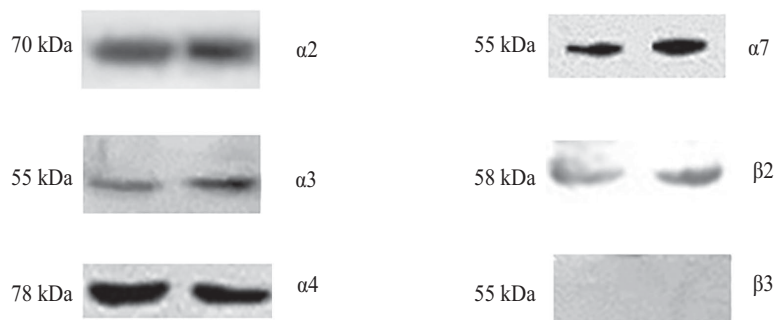


图4 星形胶质细胞内nAChRs亚单位蛋白质水平

Fig.4 Protein levels of nAChRs subunit proteins in astrocytes

nAChRs有 $\alpha 2$ -10和 $\beta 2$ -4等12种亚单位, 每种亚单位都有不同的基因编码。不同的nAChRs亚单位主要由2个或多个 α 或 β 亚单位构成五聚体, 但并不包括 $\alpha 7$ 亚单位, 它是仅由 $\alpha 7$ 亚单位构成的五聚体。不同亚单位的构成, 在体内就会相应产生不同的药理学和功能^[18]。虽然乙酰胆碱受体具有1个共同的基本结构, 但是其生理学功能和药理学属性最终取决于受体体内不同的亚基组成, 因此, 深入了解神经系统内亚基的功能、探索出新的亚型选择性药物对于治疗神

经退行性疾病将提供一个新的靶点^[19]。

以往研究发现, 星形胶质细胞中主要有nAChR $\alpha 4$ 、 $\alpha 7$ 、 $\beta 2$ 、 $\beta 3$ 亚单位表达^[20], 其中对 $\alpha 7$ 亚单位表达与阿尔茨海默病等神经退行性疾病关系的研究较多, 表明星形胶质细胞中表达的nAChRs具有重要的神经保护及调节作用^[21-22]。我们研究发现, 星形胶质细胞中有 $\alpha 4$ 、 $\alpha 7$ 、 $\beta 2$ 的表达, 特别是发现有 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 表达。将 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 加以测序并将测序结果进行Blast比对分析, 结果表明, 星形胶质细胞内有 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 亚

单位的表达。然而,本研究并未检测出 $\beta 3$ 亚单位的表达。根据之前的研究发现, $\beta 3$ 亚单位的引物序列特异性并不高,但是本实验设计的序列特异性高^[20]。因此,考虑可能跟引物设计的特异性相关。

有研究发现,激活星形胶质细胞上的 $\alpha 7$ nAChR,能够增加释放转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)和谷氨酰合成酶,这两种物质都具有神经保护的作用^[23]。星形胶质细胞在nAChRs的介导下具有神经保护的作用,能够抵抗 β -淀粉样蛋白对细胞的损害以及年龄或损伤导致的多巴胺神经细胞的丢失^[24]。然而,星形胶质细胞nAChRs亚单位的表达情况及其功能却少有深入探索。星型胶质细胞中不同类型的nAChRs亚单位表达的生理意义有待进一步深入研究。

总之,本研究通过RT-PCR法和蛋白质印迹法检测到正常的星形胶质细胞nAChRs的表达情况,为深入探索星形胶质细胞的生理功能及其在神经系统中的病理功能提供了方向。

参考文献 (References)

- 田乃元, 吴旭, 卢岩. 星形胶质细胞与认知功能的研究进展. 解剖科学进展(Tian Naiyuan, Wu Xu, Lu Yan. Progress of the astrocytes and cognitive function. Progress of Anatomical Sciences) 2014; 2(3): 283-7.
- 武良玉, 鲍秀琦, 孙华, 张丹. 星形胶质细胞上的清道夫受体与神经炎症的关系. 中国医学科学院学报(Wu Liangyu, Bao Xiuqi, Sun Hua, Zhang Dan. Scavenger receptor on astrocytes and its relationship with neuroinflammation. Acta Academiae Medicinae Sinicae) 2014; 36(3): 330-5.
- 龚长银, 周爱玲. 大鼠星形胶质细胞Toll样受体表达谱. 中国老年学杂志(Gong Changyin, Zhou Ailing. The expression of toll-like receptors in astrocytes. Chinese Journal of Gerontology) 2014; 4(34): 1879-81.
- 唐智, 单可人, 官志忠. 神经型尼古丁乙酰胆碱受体在阿尔茨海默病发病机制中的作用. 中国老年学杂志(Tang Zhi, Shan Keren, Guan Zhizhong. The effect of neuronal nicotinic acetylcholine receptors of mechanisms in Alzheimer's disease. Chinese Journal of Gerontology) 2009; 29(12): 1589-91.
- 欧阳凯, 齐晓岚, 官志忠. 神经型尼古丁乙酰胆碱受体在阿尔茨海默病中的神经保护作用. 中国老年学杂志(Ou Yangkai, Qi Xiaolan, Guan Zhizhong. The neuroprotection effect of neuronal nicotinic acetylcholine receptors in Alzheimer's disease. Chinese Journal of Gerontology) 2012; 32(3): 653-5.
- Hernández-Morales M, García-Colunga J. Effects of nicotine on K^+ currents and nicotinic receptors in astrocytes of the hippocampal CA1 region. Neuropharmacology 2009; 56(6/7): 975-83.
- Halassa MM, Fellin T, Haydon PG. The tripartite synapse: Roles for gliotransmission in health and disease. Trends Mol Med 2007; 13(2): 54-63.
- Jourdain P, Bergersen LH, Bhaukaurally K, Bezzi P, Santello M, Domercq M, et al. Glutamate exocytosis from astrocytes controls synaptic strength. Nat Neurosci 2007; 10(3): 331-9.
- Nordberg A. Nicotinic receptor abnormalities of Alzheimer's disease: Therapeutic implications. Biol Psychiatry 2001; 49(3): 200-10.
- McCarthy KD, Vellis JD. Preparation of separate astroglial and oligodendroglial cell cultures from rat cerebral tissue. Cell Biol 1980; 85: 890-902.
- Schildge S, Bohrer C, Beck K, Schachtrup C. Isolation and culture of mouse cortical astrocytes. J Vis Exp 2013; doi: 10.3791/50079.
- 刘畅, 国海东, 康湘萍, 王梦之. 星形胶质细胞产生的趋化因子在阿尔茨海默病发生发展中的作用. 生理科学进展(Liu Chang, Guo HaiDong, Kang XiangPing, Wang MengZhi. The role of chemokines on astrocytes in the development of Alzheimer's disease. Progress in Physiological Sciences) 2014; 4(2): 125-7.
- Hirase H, Iwai Y, Takata N, Shinohara Y, Mishima T. Volume transmission signalling via astrocytes. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 2014; 369(1654): 20130604.
- Allaman I, Bélanger M, Magistretti PJ. Astrocyte-neuron metabolic relationships: For better and for worse. Trends Neurosci 2011; 34(2): 76-87.
- Chung WS, Clarke LE, Wang GX, Stafford BK, SherA, Chakraborty C, et al. Astrocytes mediate synapse elimination through MEGF10 and MERTK pathways. Nature 2013; 504(7480): 394-400.
- Lewis AS, Picciotto MR. High-affinity nicotinic acetylcholine receptor expression and trafficking abnormalities in psychiatric illness. Psychopharmacology (Berl) 2013; 229(3): 479-85.
- Higley MJ, Picciotto MR. Neuromodulation by acetylcholine: Examples from schizophrenia and depression. Curr Opin Neurobiol 2014; 29: 88-95.
- Govind AP, Walsh H, Green WN. Nicotine-induced upregulation of native neuronal nicotinic receptors is caused by multiple mechanisms. J Neurosci 2012; 32(6): 2227-38.
- Changeux JP. Allosteric receptors: From electric organ to cognition. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2010; 50: 1-38.
- Xiu J, Nordberg A, Zhang JT, Guan ZZ. Expression of nicotinic receptors on primary cultures of rat astrocytes and up-regulation of the $\alpha 7$, $\alpha 4$ and $\beta 2$ subunits in response to nanomolar concentrations of the β -amyloid peptide(1-42). Neurochem Int 2005; 47(4): 281-90.
- Hernandez CM, Dineley KT. $\alpha 7$ Nicotinic acetylcholine receptors in Alzheimer's Disease: Neuroprotective, neurotrophic or both? 2012; 13(5): 613-22.
- Oz M, Lorke DE, Yang KH, Petroianu G. On the interaction of β -amyloid peptides and $\alpha 7$ -nicotinic acetylcholine receptors in Alzheimer's disease. Curr Alzheimer Res 2013; 10(6): 618-30.
- Di Cesare Mannelli L, Tenci B, Zanardelli M, Failli P, Ghelardini C. $\alpha 7$ nicotinic receptor promotes the neuroprotective functions of astrocytes against oxaliplatin neurotoxicity. Neural Plast 2015; doi: 10.1155/2015/396908.