·综述·

神经元突触囊泡内吞作用与神经系统疾病的研究现状

乔思佳，钱琳琳，元小冬，张萍淑，刘妍

摘要 神经元突触囊泡内吞作用是神经元维持正常生理功能必不可少的部分，囊泡内吞作用模式可分为网格蛋白介导内吞、Kiss and run、不依赖网格蛋白的大量内吞作用、超速内吞。囊泡内吞作用看似是一个简单的回收过程，但多种因素造成的内吞缺陷会导致神经系统疾病。近年来，针对这种机制引起的神经系统疾病研究已成为医学科学研究热点，干预内吞作用或可为神经系统疾病治疗提供新的靶点。

关键词 神经元突触；囊泡内吞；网格蛋白；神经系统疾病；电镜

中图分类号 R741；R741.02 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.2019.07.007

乔思佳, 钱琳琳, 元小冬, 等. 神经元突触囊泡内吞作用与神经系统疾病的研究现状[J]. 神经损伤与功能重建, 2019, 14(7): 349-352.

作者单位
华北理工大学附属开滦总医院神经内科/河北省神经生物机能重点实验室 河北 唐山 063000

基金项目
河北省自然科学基金（No.H2015209112）

收稿日期
2018-07-23

通讯作者
张萍淑
kysnsys@sohu.com

神经信息的传递通过突触囊泡膜和突触前膜的融合释放神经递质来实现，突触囊泡的内吞作用一旦丧失，会导致突触前膜的面积持续增大，膜的侧向张力逐渐减小，神经元突触会失去正常功能，可见突触囊泡的内吞作用对突触前膜的动态平衡至关重要[1,2]。囊泡的内吞功能主要有以下几点：补充囊泡池，保障囊泡循环正常进行；摄取神经营养因子及细胞表面的分子；维持膜动态平衡。内吞途径主要包括慢速内吞作用（网格蛋白介导内吞）、快速内吞作用（Kiss and run、不依赖网格蛋白的大量内吞作用、超快速内吞）[3,4]。突触囊泡内吞作用缺陷是癫痫、帕金森病、阿尔兹海默病等多种神经系统疾病的发病机制之一。本文就国内外突触囊泡内吞作用的研究现状并结合临床病症进行综述。

1 突触囊泡内吞作用的研究方法

1.1 电生理技术检测

电生理技术可获得正常的神经元状态、功能及其相互作用，同时也是研究神经突触是否发育成熟的最可靠方法。目前国内外最常用于研究内吞机制的是全细胞式的膜片钳技术。它具有应用范围广、可在神经兴奋膜电位稳定时快速记录离子通道电流的优点。Zhong等[5]运用这种技术连续记录基因嵌合体共培养小鼠神经元突触电活动，检查突触前后Nrg1/ErbB信号诱导调节谷氨酸转运。同样，张吉凤等[6]采用高频刺激干扰神经元并用这种技术记录变化，验证endophilin表达异常破坏大鼠海马神经元突触囊泡内吞作用。膜片钳技术目前存在一些问题无法攻破，如损伤细胞骨架、对细胞和电极要求高、不利于长时间测量记录等，还需进一步研究改进。

1.2 电子显微镜检测（electron microscopy，EM）

1.2.1 冷冻电镜（Cryo-EM）和光电联合显微技术（Correlative light and electron microscopy，CLEM） Cryo-EM可避免神经元被复杂的化学药品处理及漫长的固定、染色、脱水过程，减少突触超微结构变形损伤。它直接将神经元短时间内在极低的温度下冷冻（液氮）再经过冷冻替代或直接在冷冻电镜下观看。运用这种“快速冷冻”的显微镜可观察到生理状态下难以捕捉到的超快速内吞，为研究超快速内吞途径提供有利证据[7]。目前冷冻电镜技术的分辨率还不完美，还需进一步开发[8]。

CLEM结合光学显微镜可观察活体细胞和电子显微镜的高空间分辨率的特点，为突触超微结构的研究提供新的技术手段[9]。CLEM即将神经元进行荧光染色处理，首先在光学显微镜下成像，然后迅速固定应用电镜观察超微结构。Begemann等[10]运用CLEM观察小鼠海马神经元时对这项技术进行改良，利用金微图案对神经元定位，保证光电显微镜拍摄为同一神经元。但这种随机图案自动对齐CLEM也存在偏差，导致目前很多学者认为可将CLEM与Cryo-EM结合，以弥补各自的缺点，这种联合技术仍在探索中。

1.2.2 原子力显微镜（atomic force microscope，AFM）和扫描透射电子显微镜（Scanning transmission electron microscopy，STEM） 由于神经突触仅几百个纳米大小，只有在纳米分辨率下直接观察，才能清晰地观察到突触超微结构及突触局部动力学改变，这在学术界仍是一个挑战。AFM不需对神经元进行任何处理，液体环境下就可观察，将神经元损伤降到最低。通过探针与神经元碰撞，探头悬臂弯曲并接收细胞表面原子信息，改变探针位置和产生震动，实现神经元的三维成像[11]。Shibata等[12]应用AFM观察培养的大鼠海马神经元，实现活神经元动态的形态学的直接可视化。德国明斯特大学医学研究所在研究CLEM应用于神经元突触功能研究时提出，扫描电子显微镜（SEM）和透射电子显微镜（TEM）可更直观地观察到突触超微结构[13]。这种与AFM相似的以断层扫描三维重构方式观察突触超微结构的技术叫作STEM，为学

术界研究突触囊泡内吞过程提供新的视角。

1.3 荧光染料标记

1.3.1 FM1-43和pHluorin FM1-43是一种具备双极性的水溶性苯乙烯类荧光燃料，分子由亲水基团头部和亲脂基团尾部组成[14]。FM1-43具有不影响正常的囊泡功能和转运、易溶于水及被细胞膜吸收、不会扩散到细胞质中、插入脂质双分子层具有强荧光作用而在水溶液中几乎不发荧光等优点，广泛应用于追踪突触囊泡内吞过程。Ramperez等[15]体外培养7 d小脑颗粒细胞并用布雷菲德菌素A干扰抑制AP-1/AP-3介导的囊泡回收，应用FM1-43荧光标记干扰的细胞，观察不同情况下囊泡内吞变化，表明AP-1/AP-3有利于突触囊泡循环。但是由于FM1-43特异性标记的时间分辨率较差，不能像膜片钳技术一样提供毫秒级变化的信息，难以排除其他因素干扰。目前，学者们应用光转化与突触囊泡共定位解决了这一缺陷。光转化使得作用的突触囊泡被电镜观察到，增加荧光标记精准度[16]。

pHluorin是一种pH值敏感的绿色荧光蛋白（green fluorescent protein，GFP），它可以随着pH值的升高荧光强度增高。突触囊泡内吞作用摄取酸性神经递质pH值降低酸化，胞吐释放神经递质pH值升高，pHluorin感知这种pH变化发出不同强度的荧光，用于研究突触囊泡的循环[17]。由于pHluorin便于操作检测，灵敏度高；不需要加入辅助因素，仅激发就可以发出荧光，荧光稳定性强，不易淬灭；染料对细胞无害，可直接鉴定活细胞的内吞，因此普遍应用于突触囊泡内吞的研究。近几年，很多学者们应用这项技术研究囊泡内吞，特别是不依赖网格蛋白介导的快速内吞[18-20]。

1.3.2 量子点（quantum dots，QDs） QDs是半导体纳米级晶体，尺寸大概在1~10 nm，QDs发出荧光的波长取决于量子点的大小，因此结合不同的受体激发的荧光波长不尽相同。较小的纳米粒子可经过CME途径内吞，较大的粒子则需要其他胞吞方式摄取。与FM1-43和pHluorin不同，QDs可精准标记囊泡，定位单一囊泡位置，追踪不同途径内吞的过程。作为一种优势荧光探针，QDs具有量子产量高，耐光漂白；宽激发荧光范围和窄发射荧光范围，避免背景散射；良好的光稳定性和持续性，追踪活细胞中介导的内吞等优点。Carcea等[21]将大鼠大脑皮质神经元在含Sema3A-QDs复合物的溶液中室温培养30 min，每5 min涡旋一次，洗去多余培养液以保证观察到纯净的被转染的神经元，监测大鼠皮质神经元Sema3A胞吞作用。中国香港科技大学分子神经科实验室同样利用QDs技术，通过荧光强度以区分内化的和细胞表面的乙酰胆碱受体（acetylcholine receptor，AchR），证实重症肌无力的发病机制与乙酰胆碱内吞紊乱有关，可为此类疾病提供一种新的干预治疗方式[22]。

2 突触囊泡内吞与神经系统疾病

2.1 网格蛋白介导内吞作用（Clathrin mediated endocytosis，CME）

CME是突触囊泡内吞作用的主要途径，该通路实现一次囊泡循环约20 s[23-25]。该通路按时间顺序大抵可以分为四个阶段，即形成网格蛋白包被、突触前膜凹窝形成、凹窝缩缢和剪切、去除网格蛋白包被[26]。

2.1.1 形成网格蛋白包被 胞吐完成神经递质释放后，“引物”囊泡膜碎片从递质释放的“活动区”移动到相隔1 μm距离的“内吞区”触发内吞过程[27]。“适配器”衔接蛋白-2（adaptor protein 2，AP-2）识别“内吞区”的囊泡膜成分，同时与具有“三脚架”结构的网格蛋白结合，形成网格蛋白包被[28]。网格蛋白包被形成障碍导致CME通路无法启动，阻碍囊泡内吞作用正常进行。突触功能降低和突触缺失是阿尔兹海默病（Alzheimer disease，AD）的发病机制之一，AP-2、网格蛋白等突触内吞蛋白在AD脑组织中明显减少。Garcia等[29]培养原代海马神经元，运用抗体内化测定法、M6a-GFP / RFP共表达标记等方法观察膜糖蛋白M6a内化情况，证明M6a的内化与AP-2有关涉及CME，对神经元可塑性具有重要作用，M6a通过CME途径内吞再循环回细胞膜，编码神经元膜表面M6a基因的表达突变会引起AD、抑郁症、精神分裂等疾病，故通过恢复M6a水平可以治疗这些神经系统疾病。

2.1.2 突触前膜凹窝形成 包被段膜表面在BAR家族蛋白等曲率蛋白的作用下逐渐内陷，形成凹窝。BAR蛋白家族的Endophilin被证实参与囊泡内吞的早期膜凹陷至后期去包被等多个过程[30]。Endophilin蛋白的羧基（C）端含SH结构域，结合内吞作用蛋白的多聚脯氨酸残基，参与凹窝形成；氨基（N）端含BAR结构域，具备螺旋结构和卷曲结构（Coiled-coil，C-C ），改变膜的曲率[31]。Endophilin缺陷后凹窝不能继续形成，CME通路中断[32]。

帕金森病（Parkinson’s disease，PD）与突触功能失调是分不开的，囊泡内吞作用障碍导致多巴胺能神经元死亡是PD发病的一个重要原因。Pan等[33]以PD相关基因（Leucine-rich repeat kinase2，LRRK2）调节突触囊泡内吞为切入点，制作LRRK2突变体小鼠模型，观察其运动障碍等典型的PD表现，取LRRK2转基因小鼠中脑神经元，利用pHluorin实时成像追踪囊泡验证内吞机制损伤，由于LRRK2突变破坏endophilin的作用干扰囊泡内吞引起PD，临床上可通过干预LRRK2以达到治疗PD的目的。

2.1.3 突触前膜凹窝缩缢和剪切 突触前膜凹窝缩缢足够的弯曲度后，需要Dynamin蛋白的“剪刀”作用将新囊泡从突触前膜上剪切下来。抑制Dynamin的表达，虽然凹窝可以形成，但不能及时被剪切的大量凹窝聚集在突触前膜影响正常的内吞作用[34]。癫痫性脑病（epileptic encephalopathies，EE）表现为癫痫性异常引起的脑功能损伤，包括认知、行为、智力及精神状态的改变，是一种严重的儿童期神经系统疾病[35]。脑癫痫性放电很大程度上与兴奋性神经递质释放过多有关。Fan等[36]发现，与对照组相比，Dynamin1和Dynamin3基因敲除小鼠体型小、驼背姿势且对正常刺激无反应，由于阻断Dynamin作用损害网格蛋白介导的内吞作用，神经元回收谷氨酸等兴奋性神经递质、神经营养因子等物质的作用减弱，这种缺陷的慢性累积很大程度上会影响神经发育，导致EE发生。

2.1.4 去除网格蛋白包被 网格蛋白包被去除的过程主要有具有ATP活性的热休克蛋白(Hsc70)及辅助蛋白Auxilin的参与[37],Auxilin具有激活Hsc70、提高Hsc70的ATP酶活性、锚定包被促使网格蛋白和AP-2迅速脱离囊泡的作用。Hsc70及其辅助蛋白异常造成突触内吞作用的缺陷,导致肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis,ALS)、PD、AD等神经退行性疾病[38]。

毒性神经递质如谷氨酸大量堆积于神经元之间是ALS的一个重要发病机制,囊泡内吞作用可及时回收谷氨酸防止神经元持续兴奋,一旦内吞作用缺失便会增加ALS发病机率。Coyne等[39]发现TAR-DNA结合蛋白-43(TAR DNA-binding domain protein 43,TDP-43)过度表达与ALS发病有关,运用PCR等技术验证突变体TDP-43的果蝇神经元中Hsc70 mRNA隔离于TDP-43复合物中导致其表达量减少,实验转染TDP-43至小鼠运动神经元,由于Hsc70及辅助蛋白水平降低,FM1-43回收囊泡缺陷间接证明内吞作用受阻,此实验为突变神经元加入Hsc70干预发现可减少TDP-43毒性。因此,临床可根据相关原理调控Hsc70表达治疗ALS。

2.2 Kiss and run

Kiss and run是神经递质释放囊泡膜不会与突触前膜完全融合,而是在胞吐活动区形成一纳米级小孔,快速释放递质同时回收物质,小孔关闭,全程仅需1 s即进入下一囊泡循环[40]。融合小孔的形成主要依靠SNARE复合体形成及肌动蛋白相互作用[41]。Wen等[42]的实验表明在感光细胞突触存在的有效Kiss and run途径内吞有助于快速补充囊泡池,同时也验证这种途径是融合孔(孔径约2.3~4.6 nm)瞬间开放和关闭的过程。维持Kiss and run机制的关键在于突触囊泡不完全塌陷,已有研究发现Dynamin 1起重要作用。此时,Dynamin 1发挥的并非剪切作用,而是在小孔附近环绕成套,抑制突触囊泡与突触前膜持续融合,并协同肌动蛋白关闭融合小孔[43-45]。

2.3 不依赖网格蛋白的大量内吞作用(Clathrin-independent bulk endocytosis,CIE)

CIE是在强烈刺激下,大片突触前膜向内褶皱形成类似内涵体的结构,随后类内涵体结构以出芽形式释放囊泡,补充囊泡池。CIE通路首先在青蛙的神经肌接头被发现,之后也在中枢神经突触研究中被发现。Park等[23]通过研究原代培养海马神经元成熟过程中CIE作用,证明CIE通过依赖AP-1/AP-3捕获突触囊泡,且在强烈刺激下,CIE对突触囊泡回收作用随神经元成熟而增强,并且在神经元完全成熟时达到67%。与Park不同的是,Soykan等[1]在生理状态下加入Dynamin抑制剂,测定不同频率与时间下突触囊泡蛋白-pHluorin表达水平,Dynamin抑制剂处理组神经元340 Hz 5 s刺激后1 s中突触素-pHluorin恢复水平降低,证明CIE主要依赖Dynamin介导装配。

2.4 超速内吞作用

在高强度刺激下,CME经典模式不足以代偿突触间隙的递质残留及补充囊泡池,需要额外的快速途径来完成这项工作。这种不需要形成网格蛋白包被,可在150~250 ms内完成递质回收的途径即超速内吞[46]。超速内吞作用也受Dynamin的调控,抑制Dynamin的剪切作用,电镜下观察到突触前膜上形成未被剪切的巨大融合囊泡,突触沉默。

最近几年新发现的活动依赖的批量内吞作用(activity-dependent bulk endocytosis,ADBE)通路是在强烈刺激下快速回收递质[47]。周继秀等[48]制备无镁小鼠海马神经元癫痫模型,与正常神经元比较,模型神经元去磷酸化Dynamin水平升高,ADBE通路活动增强,验证ADBE途径内吞参与癫痫动作电位活动,加入Dynamin抑制剂干预,运用膜片钳技术记录正常组、癫痫组及干预组神经元动作电位,荧光检测癫痫细胞ADBE通路内吞情况等方法证明抑制剂干预后此通路作用减弱,癫痫细胞兴奋性降低,从而给临床治疗癫痫提供新的方法。

3 结语与展望

神经元突触囊泡内吞作用是整个神经系统的功能基础,这是一个多种复杂精细步骤环环相扣的过程,任何一个环节出现问题,囊泡内吞就会受损且导致病变。目前,对突触囊泡内吞作用的研究比较清晰,参与各途径的相关因子也逐渐凸显出来,但由于囊泡内吞速度过快,捕捉其完整的过程仍面临巨大挑战。现在的电子显微技术发展迅猛,不仅能清晰观察突触超微结构,甚至可以监测活突触囊泡的内吞情况,然而由于这些先进的技术造价不菲且操作复杂,并不能普及到各基层研究室,未来还需改进。科学家们在不断探索突触囊泡内吞机制时,发现内吞作用紊乱会引起癫痫、PD及AD等神经系统疾病。目前,内吞作用各通路因子抑制剂和激动剂干预、基因调控等方法作用于神经系统疾病动物模型离体神经元并且初见成效,但这些方法尚未能很好地应用到动物模型,因此干预后动物模型会导致什么样的变化还未可知,还需继续探索。了解神经系统疾病中突触缺失及囊泡内吞作用障碍机制,寻找药物干预、基因调控等新治疗靶点非常必要。

参考文献

[1] Soykan T, Kaempf N, Sakaba T, et al. Synaptic Vesicle Endocytosis Occurs on Multiple Timescales and Is Mediated by Formin-Dependent Actin Assembly[J]. Neuron, 2017, 93: 854-866.e4.

[2] Kononenko N, Haucke V. Molecular Mechanisms of Presynaptic Membrane Retrieval and Synaptic Vesicle Reformation[J]. Neuron, 2015, 85: 484-496.

[3] Wu LG, Hamid E, Shin W, et al. Exocytosis and endocytosis: modes, functions, and coupling mechanisms.[J]. Annu Rev Physiol, 2014, 76: 301-331.

[4] Watanabe S, Rost BR, Camacho-Pérez M, et al. Ultrafast endocytosis at mouse hippocampal synapses.[J]. Nature, 2013, 504: 242-247.

[5] Zhong C, Akmentin W, Du C, et al. Axonal Type III Nrg1 Controls Glutamate Synapse Formation and GluA2 Trafficking in Hippocampal-Accumbens Connections[J]. eNeuro, 2017, 4: ENEURO.0232-16.2017.

[6] 张吉凤, 尹义臣, 杨万勇, 等. RNA干扰endophilin A2抑制大鼠海马神经元突触囊泡内吞[J]. 中国病理生理杂志, 2016, 32: 819-824.

[7] Watanabe S, Rost BR, Camacho-Pérez M, et al. Ultrafast endocytosis at mouse hippocampal synapses.[J]. Nature, 2013, 504: 242.

[8] Glaeser RM. How good can cryo-EM become?[J]. Nat Methods, 2016, 13: 28-32.

[9] Kobayashi S, Iwamoto M, Haraguchi T. Live correlative light-electron

microscopy to observe molecular dynamics in high resolution[J]. Microscopy, 2016, 65: 296-308.
[10] Begemann I, Viplav A, Rasch C, et al. Stochastic Micro-Pattern for Automated Correlative Fluorescence - Scanning Electron Microscopy[J]. Sci Rep, 2015, 5: 17973.
[11] Hiroyuki K, Takao T. Atomic Force Microscope[J]. Oyobuturi, 2018, 59: Unit 2C.2.
[12] Shibata M, Watanabe H, Uchihashi T, et al. High-speed atomic force microscopy imaging of live mammalian cells.[J]. Biophys Physicobiol, 2017, 14: 127-135.
[13] Begemann I, Galic M. Correlative Light Electron Microscopy: Connecting Synaptic Structure and Function[J]. Front Synaptic Neurosci, 2016, 8: 28.
[14] 邓锦波, 李明善, 吴萍, 等. FM1-43标记功能性突触小泡技术[J]. 解剖学杂志, 2007, 44: 250-252.
[15] Rampérez A, Sánchez-Prieto J, Torres M. Brefeldin A sensitive mechanisms contribute to endocytotic membrane retrieval and vesicle recycling in cerebellar granule cells[J]. J Neurochem, 2017, 141: 662-675.
[16] 李叶菲, 张晓醒, 段树民. 突触囊泡循环研究进展[J]. 生理学报, 2015, 67: 545-560.
[17] Lou X. Sensing Exocytosis and Triggering Endocytosis at Synapses: Synaptic Vesicle Exocytosis – Endocytosis Coupling[J]. Front Cellular Neurosci, 2018, 12: 66.
[18] Villarreal S, Lee SH, Wu LG. Measuring Synaptic Vesicle Endocytosis in Cultured Hippocampal Neurons.[J]. J Vis Exp, 2017, 2017: doi: 10.3791/55862.
[19] Afuwape OA, Kavalali ET. Imaging Synaptic Vesicle Exocytosis-Endocytosis with pH-Sensitive Fluorescent Proteins[J]. Methods Mol Biol, 2016, 1474: 187-200.
[20] Nicholson-Fish JC, Smillie KJ, Cousin MA. Monitoring activity-dependent bulk endocytosis with the genetically-encoded reporter VAMP4-pHluorin[J]. J Neurosci Methods, 2016, 266: 1-10.
[21] Carcea I, Benson DL. Visualizing and Characterizing Semaphorin Endocytic Events Using Quantum Dot-Conjugated Proteins[J]. Methods Mol Biol, 2017, 1493: 277-286.
[22] Lee CW, Zhang H, Geng L, et al. Crosslinking-induced endocytosis of acetylcholine receptors by quantum dots[J]. Plos One, 2014, 9: e90187.
[23] Park J, Cho OY, Kim JA, et al. Endosome-mediated endocytic mechanism replenishes the majority of synaptic vesicles at mature CNS synapses in an activity-dependent manner[J]. Sci Rep, 2016, 6: 31807.
[24] Delos Santos RC, Bautista S, Lucarelli S, et al. Selective regulation of clathrin-mediated epidermal growth factor receptor signaling and endocytosis by phospholipase C and calcium[J]. Mol Biol Cell, 2017, 28: 2802-2818.
[25] Ferguson JP, Willy NM, Heidotting SP, et al. Deciphering dynamics of clathrin-mediated endocytosis in a living organism[J]. J Cell Biol, 2016, 214: 347-358.
[26] Schmid SL. Clathrin-coated vesicle formation and protein sorting: an integrated process[J]. Annu Rev Biochem, 1997, 66: 511-548.
[27] 李穆丰, 施玉. 网格蛋白介导的突触囊泡内吞机制[J]. 神经科学通报(英文版), 2002, 18: 643-647.
[28] Milosevic I. Revisiting the Role of Clathrin-Mediated Endoytosis in Synaptic Vesicle Recycling[J]. Front Cell Neurosci, 2018, 12: 27.
[29] Garcia MD, Formoso K, Aparicio GI, et al. The Membrane Glycoprotein M6a Endocytic/Recycling Pathway Involves Clathrin-Mediated Endocytosis and Affects Neuronal Synapses[J]. Front Mol Neurosci, 2017, 10: 296.
[30] Burk K, Murdoch JD, Freytag S, et al. EndophilinAs regulate endosomal sorting of BDNF-TrkB to mediate survival signaling in hippocampal neurons[J]. Sci Rep, 2017, 7: 2149.
[31] Sundborger A, Soderblom C, Vorontsova O, et al. An endophilin-dynamin complex promotes budding of clathrin-coated vesicles during synaptic vesicle recycling[J]. J Cell Sci, 2016, 124: 133-143.
[32] Pechstein A, Gerth F, Milosevic I, et al. Vesicle uncoating regulated by SH3-SH3 domain-mediated complex formation between endophilin and intersectin at synapses[J]. Embo Reports, 2015, 16: 232-239.
[33] Pan PY, Li X, Wang J, et al. Parkinson's disease associated LRRK2 hyperactive kinase mutant disrupts synaptic vesicle trafficking in ventral midbrain neurons[J]. J Neurosci, 2017, 134: 1-30.
[34] Mahapatra S, Fan F, Lou X. Tissue-specific dynamin-1 deletion at the calyx of Held decreases short-term depression through a mechanism distinct from vesicle resupply.[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016, 113: E3150-3158.
[35] Dhindsa RS, Bradrick SS, Yao X, et al. Epileptic encephalopathy-causing mutations in DNM1 impair synaptic vesicle endocytosis[J]. Neurol Genet, 2015, 1: e4.
[36] Fan F, Funk L, Lou X. Dynamin 1- and 3-Mediated Endocytosis Is Essential for the Development of a Large Central Synapse In Vivo[J]. J Neurosci, 2016, 36: 6097-6115.
[37] Lafer EM, Rui S. Clathrin[M]//eLS. John Wiley & Sons, Ltd, 2017.
[38] Gorenberg EL, Chandra SS. The Role of Co-chaperones in Synaptic Proteostasis and Neurodegenerative Disease [J]. Front Neurosci, 2017, 11: 248.
[39] Coyne AN, Lorenzini I, Chou CC, et al. Post-transcriptional Inhibition of Hsc70-4/HSPA8 Expression Leads to Synaptic Vesicle Cycling Defects in Multiple Models of ALS [J]. Cell Rep, 2017, 21: 110-125.
[40] Chanaday NL, Kavalali ET. How do you recognize and reconstitute a synaptic vesicle after fusion?[J]. F1000Res, 2017, 6: 1734.
[41] Wu Z, Bello OD, Thiyagarajan S, et al. Dilation of fusion pores by crowding of SNARE proteins.[J]. Elife, 2017, 6. pii: e22964.
[42] Wen X, Saltzgaber GW, Thoreson WB. Kiss-and-Run Is a Significant Contributor to Synaptic Exocytosis and Endocytosis in Photoreceptors[J]. Front Cell Neurosci, 2017, 11: 286.
[43] Wen PJ, Staffan G, Gianvito A, et al. Actin dynamics provides membrane tension to merge fusing vesicles into the plasma membrane [J]. Nat Commun, 2016, 7: 12604.
[44] Man YW, Cavolo SL, Levitan ES. Synaptic neuropeptide release by dynamin-dependent partial release from circulating vesicles[J]. Mol Biol Cell, 2015, 26: 2466-2474.
[45] Trouillon R, Ewing AG. Actin controls the vesicular fraction of dopamine released during extended kiss and run exocytosis [J]. ACS Chem Biol, 2014, 9: 812-820.
[46] Chanaday NL, Kavalali ET. Optical detection of three modes of endocytosis at hippocampal synapses[J]. Elife, 2018, 7. pii: e36097.
[47] Watanabe S, Boucrot E. Fast and ultrafast endocytosis[J]. Curr Opin Cell Biol, 2017, 47:64-71.
[48] 周继秀. Dynamin 1 的磷酸化状态与神经元兴奋性的相关性研究[D]. 重庆医科大学, 2017.

（本文编辑：王晶）