

DOI: 10.13376/j.cbils/2021085

文章编号: 1004-0374(2021)07-0791-10

· 评述与综述 ·

条件恐惧记忆的分子机制研究进展

杨 飞, 韩 笑, 刘华东*

(西安交通大学生线粒体生物医学研究所, 西安 710049)

摘 要: 恐惧位于记忆和情感的交汇处, 既是触发防御机制以适应危险的一种情绪反应, 又是研究记忆的模型。恐惧调节障碍时常会导致焦虑。该文综述了条件恐惧记忆形成及维持的主要机制, 总结了在恐惧记忆产生后, 神经元响应钙离子内流时相关的分子生物学变化, 如 CaMKs、PKA、PKM- ζ 、Rho GTPases 等激酶的激活, 以及下游 MAPK 信号的转导、转录因子的调控、相关基因的表达等方面的现有研究结果, 试图理清恐惧记忆相关分子机制。鉴于恐惧调节与诸如创伤后应激障碍 (PTSD) 之类的某些情绪障碍有密切关系, 条件恐惧记忆形成的分子机制研究可能为精神障碍药物的开发提供潜在的靶标。

关键词: 条件恐惧记忆; 长时程增强; CaMKs; PKA; PKM- ζ ; CREB; Rho GTPases

中图分类号: Q427; R749.72

文献标志码: A

Research progresses in the molecular mechanism of conditional fear memory

YANG Fei, HAN Xiao, LIU Hua-Dong*

(Institute of Mitochondrial Biology and Medicine, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China)

Abstract: Fear lies in the intersection of memory and emotion. Fear memory is also considered to be a form of memory and fear conditioning is a well-characterized rodent learning model. However, fear dysregulation might cause anxiety- and trauma-related disorders. Numerous studies have investigated the mechanisms of conditional fear memory. In this review, we summarized the research progresses in conditional fear memory. In detail, the calcium ion inflow responding molecules, such as the activation of CaMKs, PKA, PKM- ζ and Rho GTPases, MAPK signaling transduction, transcription factor regulation, and memory related gene expression were discussed to elucidate the molecular mechanism of synaptic transmission in fear memory. Given that fear conditioning has been implicated in some emotional disorders like post-traumatic stress disorder (PTSD), understanding the molecular mechanism of conditional fear memory might provide potential targets for the mental disorder drug development.

Key words: conditional fear memory; LTP; CaMKs; PKA; PKM- ζ ; CREB; Rho GTPases

恐惧位于记忆和情感的交汇处, 恐惧调节障碍可能会导致焦虑, 如创伤后应激障碍 (post-traumatic stress disorder, PTSD)。不仅是战争、灾难等大型创伤事件可以引起 PTSD, 很多生活中常见的打击如袭击、车祸也可以是诱因, 患者轻则出现焦虑、抑郁和噩梦等症状, 重则可能导致死亡^[1]。但是, 恐惧习得对动物具有巨大的生存价值, 可以帮助动物从看似中立的环境中预测危险, 即产生条件恐惧记忆^[2]。本综述将总结神经生物学在恐惧记忆方面的最新研究进展, 探讨条件恐惧记忆的分子机制。

1 条件恐惧记忆

条件恐惧实际上是一种类似巴甫洛夫条件反射的行为, 是一种联想学习的形式^[3]。在建立小鼠模型时, 首先选取非伤害性条件刺激 (conditioned

收稿日期: 2021-02-05; 修回日期: 2021-03-01

基金项目: 国家自然科学基金项目(31670781); 陕西省创新能力支撑计划(2018PT-28)

*通信作者: E-mail: Huadongliu@xjtu.edu.cn; Tel: 029-82668463-409

stimulus, CS), 一般是某种外界信号, 如特定频率的声音、特定的条纹、气味等, 同时给予小鼠一个非条件的有害刺激 (unconditioned stimulus, US), 如脚部电击, 使小鼠在感知到有害刺激后出现僵直行为。经过数次这样的学习后, 小鼠便会将两种刺激联系起来, 此时如果只给予非伤害性条件刺激, 小鼠同样出现僵直行为, 则表明小鼠已经获得了条件恐惧记忆; 此类模型常被用来研究恐惧记忆获得、维持以及消退过程^[3-4]。

1.1 条件恐惧涉及的脑区

国际脑科学界普遍认为, 大脑杏仁核 (amygdala, Amy) 复合体, 包括外侧杏仁核 (lateral amygdala, LA)、基底外侧杏仁核 (basolateral amygdala, BLA) 和中央杏仁核 (central amygdala, CeA), 是恐惧记忆建立的神经中枢。杏仁核中的神经元在恐惧记忆的获得中起着关键作用, 而且这些神经元对于恐惧记忆的维持也至关重要^[4-5]。杏仁核是大脑颞叶内侧左右对称分布的两个形似杏仁的神经元聚集组织, 和旁边的海马 (hippocampus, Hip)、扣带回 (cingulum gyrus, CG) 和齿状回 (dentate gyrus, DG) 等都属于大脑边缘系统, 在人的各种情绪反应如愤怒、惊恐等中具有重要作用。从解剖学上来说, 杏仁核接收来自大脑各个部位如新皮层 (neocortex)、内嗅皮层 (entorhinal cortex, EC)、海马等脑区的信号, 它们在 BLA 汇合, 由 CeA 向各种脑内负责躯体运动的结构投射, 并且内嗅皮层会朝海马的各个部分 (CA1 区、CA3 区、DG 区) 传递信号, 并会接收 CA1 区的信号回传。除此之外, 内嗅皮层也会朝海马外的结构传递信号, 形成特定的恐惧反应^[6]。

Jun-Hyeong Cho 课题组通过小鼠条件恐惧模型发现, 条件恐惧记忆的形成涉及两个大脑区域之间神经通路的增强: 对特定情况作出反应并对其进行编码的海马体, 以及触发防御行为的杏仁核。与情境相关联的恐惧记忆在形成时涉及到海马体和杏仁核之间的联系^[2, 6]。此外, 2016年, 蒲慕明团队揭示在听觉恐惧记忆中起重要作用的是侧杏仁核-听觉皮层的投射通路, 并发现在听觉恐惧学习后该通路发生特异的突触连接重构^[7]。因此, 杏仁核、海马和皮层在恐惧记忆的调节中都至关重要^[2, 8]。

负责恐惧学习的大脑结构主要是海马 CA1 区、CA3-CA1 连接和 DG, 以及杏仁核 LA、BLA 和 CeA 区。但近年研究发现, 其他区域也参与或者影响恐惧记忆形成。在啮齿类动物中, 前扣带回 (anterior cingulate, ACC)、边缘前皮层 (prelimbic cortex, PL)

和边缘下皮层 (infralimbic cortex, IL) 构成前额叶皮层 (mPFC)。mPFC 在条件恐惧的神经元回路中起着关键的调节作用^[9]。条件恐惧会增加神经元一氧化氮合酶 (neuronal nitric oxide synthase, nNOS) 与 ACC 中突触后致密蛋白 95 (postsynaptic density-95, PSD-95) 的偶联^[10], 以及显著增强 PL-BLA 神经元的兴奋性, 但 IL-BLA 神经回路的激活则会抑制恐惧反应, 即促进恐惧记忆的消退^[9]。

另一个大脑区域丘脑室旁核 (paraventricular nucleus of the thalamus, PVT) 是一个很容易被生理和心理应激源激活的区域。当动物学会恐惧或唤起恐惧记忆时, PVT 被特定激活。来自 PVT 的神经元投射到中央杏仁核, 破坏这一关联可显著损坏恐惧记忆的表达^[11]。伏隔核 (nucleus accumbens, NAc) 的胆碱能中间神经元中的 *Mecp2* 基因缺陷极大地削弱了恐惧学习, 表明 NAc 也同样在恐惧记忆中具有重要作用^[12]。

1.2 条件恐惧与突触可塑性

随着对记忆的深入研究, 研究者们发现恐惧记忆是通过稀疏的神经元合奏编码并存储在大脑中的, 这些神经元合称为记忆印记或痕迹, 即所谓的“印迹细胞 (engram cell)”, 可以在学习期间被标记, 以用于随后的识别和操纵^[13-14]。Kaang 团队通过重组 DNA 的方法使印迹细胞和非印迹细胞编码不同颜色的荧光蛋白, 以确定哪种类型的细胞与突触后神经元之间形成连接^[15]。突触的结构和功能受到神经元活动的调节, 从而使突触强度增强或者减弱。对小鼠进行恐惧条件训练后, 发现“印迹细胞”之间形成的突触得到特异性强化。印迹细胞之间的树突要比非印迹细胞形成的树突更密集、更大。此外, 对接受较弱电击的小鼠和接受较强电击的小鼠进行比较时, 他们发现接受更强电击的小鼠中, 此类突触连接变得更强, 证实了海马体神经元在学习期间连接在一起而形成新的记忆^[15]。

学习与记忆通常涉及到突触传递过程。1949年, Hebb^[16] 提出了突触可塑性的基本原理, 被称为 Hebbian 突触可塑性或者 Hebbian 理论, 即突触前神经元向突触后神经元的持续重复的刺激可以导致突触传递效能的增加。20世纪70年代早期, Bliss 和 Lomo^[17] 报道了海马区兴奋性突触由连续性刺激导致的突触传导效能增强可以持续几个小时甚至几天, 这种现象被定义为长时程增强 (long-term potential, LTP)。LTP 最初来自海马和新皮层锥体神经元的研究^[18-19], 随后的研究证明, LTP 可以在整

个大脑的许多区域中(例如海马体、杏仁核以及皮层等)发生, 遵循 Hebbian 理论并参与条件恐惧记忆形成。当往杏仁核内注入干扰 LTP 的药物时, 可以阻止恐惧记忆的形成^[5]。这些证据表明, 杏仁核中的 LTP 可能是一种存储 CS-US 关联记忆的机制^[20]。总之, 条件恐惧记忆是由杏仁核、海马体主导, 多脑区联动形成的动物趋利避害的本能^[21]。当条件刺激 CS 与非条件刺激 US 配对时, 响应 CS 的神经元与响应 US 的神经元同时被激活。这些神经活动之间的突触连接应变得更牢固, 导致突触可塑性 LTP 的产生, 从而储存 CS 和 US 之间的关联记忆^[20](图 1)。

2 条件恐惧记忆的分子机制

记忆以两种形式获取和存储, 即短期记忆 (short-term memory, STM) 和长期记忆 (long-term memory, LTM)^[22]。为了整合 LTM, 需要从头合成蛋白质, 这也称为可塑性相关蛋白质。LTP 是突触可塑性的一种形式, 被认为是学习和记忆的模式。LTM 的形成以及 LTP 的维持需要 LTP 特异的可塑性相关蛋白。LTP 可由强刺激诱发, 激活谷氨酸受体 *N*-甲基-D-天冬氨酸受体 (NMDAR) 使钙离子内流, 激活钙离子/钙调素依赖蛋白激酶 (CaMKs) 以及 PKA、PKB、PKC 等激酶, 随后另外一种谷氨酸受体 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸受体 (AMPA) 数量增多或者磷酸化增加导电, 增强突触传递^[23]。这些激酶下游信号都覆盖于 MAPK 信号通路, 进一步激活转录因子环磷腺苷效应元件结合蛋白 (CREB), 影响下游基因的转录以及新蛋白的合成,

巩固长期记忆^[24]。

2.1 谷氨酸受体 NMDAR、AMPA 以及 L-VGCC 的激活增强突触传递

钙离子通过离子型谷氨酸受体 NMDAR 的激活流入突触后神经元, 是触发 LTP 的重要机制^[25]。在静止的膜电位下, 钙离子流经突触后膜受体时将会被镁离子阻断, 但谷氨酸从突触前神经元释放后, 将会导致突触后神经元去极化, 从而去除镁离子对 NMDAR 的抑制作用, 并导致钙离子通过 NMDAR 内流入突触后神经元^[26]。将 NMDAR 拮抗剂注入到杏仁核外侧时, 会削弱恐惧记忆的获得^[27]。

另一个谷氨酸受体 AMPAR 数量增加是 LTP 的重要表现之一。钙离子内流激活 CaMKs, 调节 AMPAR 向突触后膜移动, 增强突触传递效能^[28]。在杏仁核内输注 AMPAR 拮抗剂可损害恐惧记忆的获得^[29-30]。相反, 在条件恐惧训练之前将 AMPAR 激动剂注入大鼠杏仁核可增强恐惧训练造成的冻结行为^[31]。AMPA 可被下游信号反馈调节, 它具有被 CaMKII 和 PKC 磷酸化的位点 S831 和被 PKA 磷酸化的位点 S845, 这两个位点突变的转基因小鼠在 AMPAR 的转运中受阻, LTP 的形成受到抑制^[32]。

突触后膜去极化不仅允许钙离子通过 NMDAR 进入细胞, 还可以打开 L 型电压门控钙通道 (L-VGCC)。L-VGCC 通过强烈的去极化刺激打开, 尤其是那些产生突触后脉冲并向后传播动作电位 (BPAP) 的刺激^[33]。L-VGCC 与恐惧调节相关, 在大鼠杏仁核外侧注入 L-VGCC 抑制剂削弱了条件恐惧记忆的巩固^[34]。钙流信号通过 NMDAR 和 L-VGCC 的激活进入突触后神经元激活激酶 CaMKs、PKA、PKC 等和下游基因的转录, 可以在几个小时内上调骨架相关蛋白 (Arc)、脑源性神经营养因子 (BDNF) 等一系列蛋白质的表达水平, 在突触结构维持方面具有重要作用^[24]。

2.2 CaMKII 激活与 LTP

激酶 CaMKII 含有 12 个亚基, 由 α -CaMKII 和 β -CaMKII 形成的异源复合物再次六聚形成。钙离子的结合可改变其局部构象, 使其发生自身磷酸化, 进入激活状态^[35]。激活后的 CaMKII 使突触后的 AMPAR 磷酸化, 影响突触可塑性^[36]。CaMKII 在 LTP 的存储过程中发挥关键作用。条件恐惧实验表明, 光诱导的 CaMKII 抑制剂——光激活的自反式抑制肽 2 (photoactivatable autocalmitide inhibitory peptide 2, PaAIP2) 可能会干扰 LTP 的形成, 但不能消除以前建立的记忆^[37]。在 LTP 维持期间, 应用 20 $\mu\text{mol/L}$

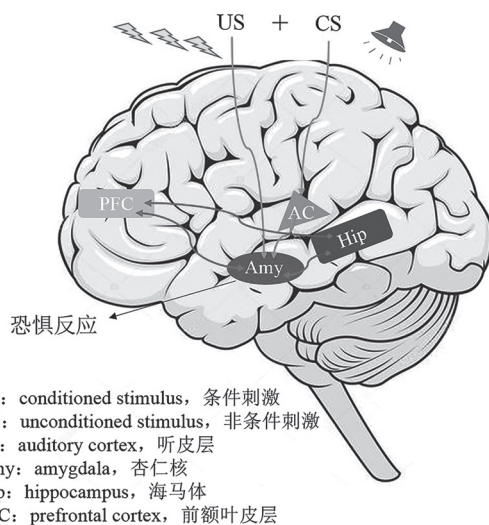


图1 条件恐惧记忆形成示意图

的 *tat* 结合 CaMKIIN 产生的衍生肽 *tatCN21* 可持久清除 LTP^[38]；但在具有 *GluN2B* 突变的小鼠中，*tatCN21* 的作用减弱，因为该突变会干扰 CaMKII 与 NMDAR 结合的能力，影响后期 LTP 的维持^[39]。

研究发现， α -CaMKII 上的第 286 位苏氨酸 (Thr²⁸⁶) 自磷酸化会导致 AMPAR 磷酸化，从而促进兴奋性电流流入突触后细胞，并且一旦发生自磷酸化之后， α -CaMKII 处于持续激活状态，不再依赖于钙离子^[40-41]。Rodrigues 及其同事发现，恐惧调节增加了杏仁外侧突触和树突棘中 α -CaMKII 的磷酸化，并且杏仁核和纹状体的 α -CaMKII 基因功能缺失时会导致条件恐惧记忆受损，表明恐惧调节激活激酶 α -CaMKII 并受到其反馈调节^[42]。 α -CaMKII 敲入 (KI) 和敲除 (KO) 小鼠也显示海马突触可塑性和行为学习受到损害^[43]。但 CaMKII 活性维持的时间较短，一般不超过几分钟^[44-45]。Irvine 等^[46] 的研究表明，阻碍 α -CaMKII 的自磷酸化可导致小鼠的恐惧调节初步学习受损，但是经过反复实验后，受损小鼠表现出与对照小鼠相似的恐惧记忆形成，因此 NMDAR 介导的钙离子进入并激活 α -CaMKII 可能是一种调节短期突触可塑性的机制。

相对于 α -CaMKII， β -CaMKII 在海马突触可塑性和学习中的作用近年来才受到关注。 β -CaMKII 和 α -CaMKII 具有高度同源性，但是它们由两个不同的基因 (分别为 *Camk2b* 和 *Camk2a*) 编码^[47]， β -CaMKII 序列中有一段可以结合 F 肌动蛋白的额外结构域。研究人员使用两种不同的 *Camk2b* 突变体研究了 β -CaMKII 在海马突触可塑性中的作用，分别是不表达 β -CaMKII 的 *Camk2b*^{-/-} 转基因小鼠和点突变的 *Camk2b*^{A303R} 小鼠。精氨酸的点突变可阻止 β -CaMKII 与钙 / 钙调蛋白的结合，抑制其激酶活性，但是保留其结合肌动蛋白的能力^[48]。研究表明， β -CaMKII 的缺失会导致 α -CaMKII 的定位错误，海马突触可塑性受损和海马依赖性的学习受损。相反，这些表型在 *Camk2b*^{A303R} 突变体中不存在。而在 *CaMKII* β (*exon13:TS/A*) 转基因小鼠中，突变导致 β -CaMKII 丧失与肌动蛋白结合的能力，使得小鼠在恐惧训练后冻结行为减少^[49]。上述结果暗示， β -CaMKII 在海马可塑性中的作用不依赖其激酶特性，可能依赖于其与肌动蛋白的结合^[50]。

2.3 PKA、PKB与LTP

cAMP 依赖蛋白激酶 PKA 在神经信号传导中起重要作用^[51]。在条件恐惧完成后立即给大鼠杏仁核注射 PKA 抑制剂 Rp-cAMPS 发现，恐惧记忆被

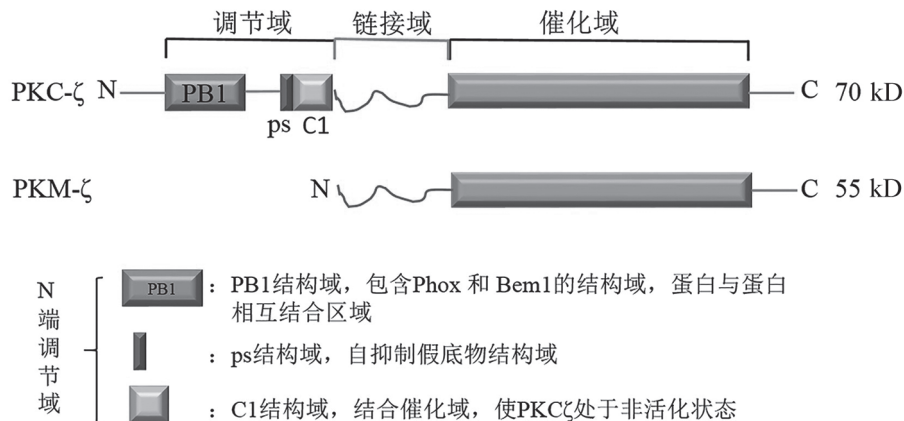
剂量依赖性地削弱，然而将注射时间推后 6 h 则没有效果。这表明 Rp-cAMPS 会干扰恐惧的长期记忆 (LTM)，但不会干扰短期记忆 (STM)，因此恐惧记忆巩固过程可能依赖 PKA 的作用^[52]。在神经细胞 PC12 中，活化的 PKA 磷酸化激活小 G 蛋白 Rap1，活化的 Rap1 进而激活 B-Raf，导致 MAPK 通路被激活^[53]。MAPKs 信号通路对长期突触可塑性以及记忆形成 (包括恐惧记忆的形成) 过程具有重要的作用^[51, 54-55]。Nader 等^[56] 研究发现，应用 MAPK 活性抑制剂会损害长期记忆，但短期记忆保持完整。除此之外，ERK2(MAPK1) 表达降低的转基因小鼠也表现出 LTM 缺陷，而 STM 完好无损，表明 PKA 和 MAPK 可能主要在 LTM 中发挥作用^[57]。

大鼠前额叶内侧皮层组织的免疫印迹分析表明，高频刺激诱导 LTP 后，Akt (PKB) 的第 473 位丝氨酸 (Ser⁴⁷³) 被磷酸化激活，该位点的激酶为 PI3K。用抑制剂渥曼青霉素或 LY294002 抑制 PI3K 后，Akt 活性被抑制，干扰恐惧记忆的长期保留，而短期恐惧记忆则保持不变^[58]。在杏仁核中，恐惧条件训练同样使得 Akt 磷酸化水平上调，激活 PI3K/Akt 通路^[54]。有意思的是，Akt 下游蛋白 mTOR 的抑制剂雷帕霉素与 PI3K 抑制剂的结果一致，说明整个 PI3K/Akt-mTOR 信号通路都参与 LTM。除此之外，PI3K 抑制剂也会抑制 MAPK 的激活，因此 mTOR 和 MAPK 在 LTP 中扮演的角色值得继续研究^[59]。

2.4 PKC激活与LTP

PKC 家族包括常规型 (α 、 β 和 γ)、新型 (δ 、 ϵ 、 η 和 θ) 和非典型 (ζ 、 ι 和 λ) 亚型。大多数 PKC 由调节域和催化域组成。调节域包含磷脂和第二信使结合位点以及一个假性底物序列，可将催化域维持在非活性状态。PKC 的激活机制分为假性底物的释放和催化区的磷酸化。附着在细胞膜上的 DAG 可以在钙离子的参与下激活 PKC，进一步磷酸化下游蛋白。全长 PKC 的激活需要膜磷脂环境和第二信使以置换自抑制假底物，其激活后从胞质转移至膜。但由于第二信使 (如钙离子) 迅速代谢，因此 LTP 中大多数全长 PKC 的激活是短暂的，仅持续数秒至数分钟^[60]。

在恐惧记忆中研究最多的是非典型 PKC 亚型 PKM- ζ 。PKM- ζ 是 PKC- ζ 在脑中的一种亚型，与全长的 PKC- ζ 相比，其缺失一段 N 端序列 (图 2^[61])，可在前额叶内侧皮层和海马中高表达^[62]。在前额叶皮层或海马中注入 PKC- ζ 特异性抑制肽 ZIP (zeta inhibitory peptide) 会损害长期记忆力。但是，前额

图2 PKC- ζ 和PKM- ζ 的蛋白结构域^[61]

叶皮层中的 ZIP 损害了早期记忆的形成,但在海马中却没有,表明 ZIP 在海马和前额内侧皮层中的作用存在差异^[63]。PKM- ζ 是长时程增强特异性可塑性相关蛋白之一,从结构上看,缺失了N端自抑制序列的PKM- ζ 是一直具有活性的,不需要第二信使 DAG 将其激活,但是它的活性受到 PI3K 的调节。PKM- ζ 的激活对于维持 LTP 以及维持学习相关的突触变化具有重要作用^[64]。PKM- ζ 除了通过调节突触后膜中 AMPAR 的数量和运输以维持记忆外,还能够磷酸化 CREB 结合蛋白 CBP^[65]。此外,抑制 PKM- ζ 后,组蛋白 H2B 和 H3 的乙酰化水平降低,而增强组蛋白乙酰化水平可以挽救 PKM- ζ 抑制导致的记忆消除作用^[65]。PKM- ζ 敲除小鼠中的 LTP 和长期记忆可以通过另一种对 ZIP 敏感的非典型同工型 PKC- ι/λ 补偿,而条件性 PKC- ι/λ 敲除则通过快速激活 PKM- ζ 来保持短期记忆而诱导补偿^[66]。因此,PKC 在 LTP 诱导过程中具有重要作用,且不同的亚型在不同的脑区具有不同的作用,具体机制还需要进一步研究。

2.5 CREB与LTP

当产生恐惧记忆时,钙离子通过 NMDARs 和 VGCCs 进入突触后细胞,随后诱发一系列的胞内反应,使得这些新生成的记忆变成持续记忆,而巩固记忆需要下游转录因子的激活以及新蛋白的合成^[24]。CREB 作为转录因子,可被 PKA、CaMKs 以及 MAPK 等激酶激活,调控下游相关基因的表达,这些基因与突触可塑性以及长期记忆的形成有关,在恐惧记忆巩固过程中具有重要作用^[67]。在杏仁核及其附近区域,CREB 过表达导致长期恐惧记忆的增强^[68]。在记忆巩固阶段,CREB 磷酸化增加;当 CREB 的第 133 位点的丝氨酸 (Ser¹³³) 被磷酸化激活

时,CREB 能够结合到下游靶基因上促进其表达,合成 LTM 所需的蛋白质^[6]。通过添加 cAMP 激动剂毛喉素或对海马和杏仁核进行人工高频诱导刺激都将导致 CREB 的磷酸化增加,表明 CREB 介导的转录在海马和杏仁核这两个区域都起着至关重要的作用^[69-70]。CREB 的持续激活不仅依赖于 MAPK 途径的激活,还依赖于 L-VGCC,两者均在恐惧训练过程中被激活,并且参与恐惧调节的 LTM。L-VGCCs 的激活导致胞内钙离子水平升高,同时活化 CaMKIV,进一步磷酸化 CREB,影响恐惧记忆的表达^[71]。

CREB 转录因子以及其他突触可塑性相关因子 (例如 mTOR^[72]) 被激活将会诱导新的大分子合成 (新的 RNA 和蛋白质)。在多种生物的神经系统中,LTM 依赖于大分子合成,而 STM 不依赖于大分子合成。在恐惧调节过程中,训练后立即抑制杏仁核中蛋白质的合成会破坏 LTM,但不会破坏 STM^[52]。此外,训练前 mRNA 合成的拮抗作用也可损害 LTM 的形成,表明除了翻译外,上游转录对于产生与 STM 转化为 LTM 有关的新蛋白质也是必需的。这些大分子合成通过改变构成突触的细胞骨架导致突触结构发生变化,从而影响记忆的长期储存^[6]。

恐惧记忆形成过程中,细胞骨架相关蛋白基因 (*Arc*),一种即刻早期基因 (immediate early genes, IEG),在海马齿状回印迹神经元中选择性持续表达^[73]。Rao-Ruiz 等^[14]通过对“*Arc* 标记”的印迹神经元的转录组进行测序并分析转录因子网络发现,前 50 个差异表达基因中有 22 个依赖 CREB,包括 *Arc*、*Atf3*、*Penk*、*Cdkn1a*、*Sorcs3* 和 *Inhba* 等。这表明 CREB 网络在印迹神经元中被激活。这些基因可以调节细胞骨架蛋白,并影响信号转导、结构重组和突触可塑性等。另外,CREB 还与核因子 κ B (NF- κ B)

相互作用:杏仁核中的 NF- κ B 在恐惧调节后被激活,并参与 LTM 而不是 STM^[74]。因此,在恐惧记忆形成过程中,CREB 的转录调节作用可能是未来重要的研究领域之一。

2.6 Rho GTPases与LTP

长期记忆与大脑的形态变化有关,而形态变化又与突触可塑性的变化紧密相关,即突触可塑性依赖于树突棘(dendritic spine)的形态变化^[75]。树突棘是树突分枝上的棘状突起,是神经元间形成突触的主要部位。条件恐惧诱导后棘的数量或形状会发生改变,形成新的突触结构^[76]。树突棘形态的长期变化有助于 LTP 发生后的突触传递^[77]。

Rho GTPases 及其下游效应子可通过调节细胞骨架进而调节树突形态,从而在恐惧调节中发挥作用^[78]。Rho GTPases 包括 Ras 家族同源成员 A (Ras homolog family member A, RhoA)、Ras 相关的 C3 肉毒杆菌毒素底物 1 (Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1, Rac) 和细胞分裂周期蛋白 42 (cell division cycle 42, Cdc42)。Rho GTPases 通过结合下游效应子调节肌动蛋白细胞骨架,调节发育过程中的轴突形态,以及树突和棘的形成^[79-80]。

研究表明,幼鼠海马切片中 Rac 的表达减少,导致锥体树突上棘的数量减少^[81]。进行条件恐惧训练之前,在杏仁基底外侧核(BLA)有条件地敲除 *Rac1*,或将 *Rac1* 抑制剂 NSC 23766 注入 BLA,可阻断 STM 和 LTM 的恐惧调节作用^[82]。Cdc42 是一种重要的信号蛋白,对肌动蛋白细胞骨架的重组和细胞的形态发生具有重要作用,如 *Cdc42* 缺失的小鼠海马 CA1 锥体神经元树突棘突触后结构可塑性受损,影响 LTM 的巩固^[83]。RhoA 和 Cdc42 的激活是 CaMKII 依赖性的,二者可将瞬时激活的 CaMKII 传递给树突棘结构可塑性所需的特异性长期信号,维持 LTP^[84]。

恐惧刺激会导致杏仁核外侧分子 GRB2 蛋白和 Rho GTP 酶激活蛋白 [GTPase-activating protein, RhoGAP (p190)] 形成复合物。p190 RhoGAP 促进 RhoA 和 GDP 结合并使其处于失活状态,但在鸟嘌呤核苷酸交换因子 (guanine nucleotide exchange factors, RhoGEFs) 的诱导下, RhoA 和 GTP 结合激活下游激酶,例如丝氨酸/苏氨酸 Rho 相关激酶 (Rho-associated kinase, ROCK)^[85]。受 Rho GTPase 调控的 ROCK 通过调控细胞骨架密切参与树突形态发生过程,例如 ROCK 缺陷的小鼠恐惧记忆受到损伤^[86],且 Fasudil (临床批准的 ROCK 抑制剂) 慢性治疗可恢复恐惧记忆灭

绝和脊柱形态改变^[87]。

研究发现,含 LIM 结构域的蛋白激酶 (Lin-11/ Isl-1/Mec-3 kinase, LIMK) 是 Rac1/PAK (p21-activated kinases, PAK) 和 RhoA/ROCK 通路的下游聚合靶点,与树突棘的形态发生、LTP 和记忆形成有关^[88]。LIMK1 基因敲除 (*LIMK1*^{-/-}) 小鼠 CREB 表达降低,LTM 明显受损,但 STM 并没有受到影响^[89]。此外, LIMK 被 PAK 激活后,能够磷酸化抑制 cofilin (一种促进肌动蛋白解聚的蛋白质) 来诱导肌动蛋白聚合。在小鼠海马背侧注射 LIMK 抑制剂 BMS-5 (BMS),促进了 cofilin 的激活,从而破坏肌动蛋白聚合物的稳定性,影响恐惧记忆的再巩固^[75]。

综上,肌动蛋白主要通过 Rho GTPase (主要包括 RhoA、Rac 和 Cdc42) 信号通路参与细胞骨架调节和神经元形成过程,在突触可塑性和记忆形成中发挥重要作用。

3 问题与展望

虽然本文对参与恐惧记忆形成的关键蛋白如 NMDAR、AMPA、CaMK、PKA、PKB、PKC、Rho GTPase、MAPK 和 CREB 等进行了讨论 (图 3^[90]),但是这些激酶之间的联系仍然非常碎片化,激酶之间的调控复杂多向,并且多数情况下激酶底物分子不只一个,如 PKA/PKM- ζ 不仅可以磷酸化另一个激酶 MAPK,也可以直接调节 AMDAR 和转录因子 CREB,因此这些激酶作用底物的网络构建需要进一步完善。LTP 维持是一个长期且复杂的过程,目前研究表明长期记忆的维持主要依赖于转录因子的激活从而合成新的蛋白,但是蛋白质的维持以及这些新蛋白如何储存记忆又是一个研究难点。

由条件恐惧诱导的记忆与其他方式形成的记忆都遵循赫伯法则,即遵循突触可塑性和 LTP,因此,条件恐惧记忆与其他类似事件记忆或者认知记忆的区别可能主要在于诱导记忆形成的神经回路不同^[91-93]。一般情况下,CS 与内部环境 (认知和激素) 和外部环境 (社会环境) 都属于条件刺激,通常经过 DG \rightarrow CA3 \rightarrow CA1 三突触途径^[92]。CA1 突触的 LTP 是兴奋性突触 LTP 的广泛代表,它依赖于 NMDAR 受体的激活,主要涉及突触后的修饰。CA3 突触的 LTP 独立于 NMDAR,完全在突触前表达^[94]。而在 US 刺激存在的情况下,形成的环路投射中心是杏仁核,但海马 LTP 伴随和支撑着这些形式的学习^[92]。

激酶在恐惧记忆的研究中多数依赖于激酶抑制剂,但是,激酶抑制剂的特异性有时候并不单一,

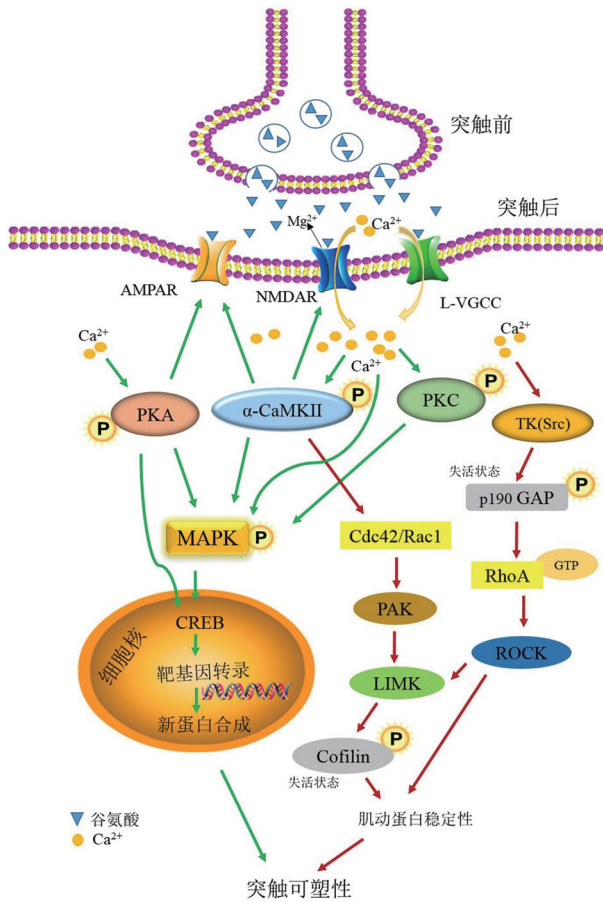


图3 恐惧记忆形成信号转导机制^[90]

因此, 研究结果可能会受到质疑, 如 PKM- ζ 在突触可塑性和长期记忆形成过程中的重要调节作用^[95]。但大多数支持 PKM- ζ 维持 LTP 的数据都是基于实验中 ZIP 的使用。实际上, 当将 WT 小鼠与同时缺乏 PKC- ζ 和 PKM- ζ 的转基因小鼠进行比较时, ZIP 能够将 LTP 降低至同等程度^[96], 这突出说明了 ZIP 的特异性不足。随着新技术如分子标记及成像技术、单细胞测序及其他组学技术、电化学及电生理技术的发展, 人们对于恐惧记忆中蛋白质作用机制的理解必将更加清晰准确。

在介导突触转运的多个机制中, 细胞骨架结构 (肌动蛋白丝和微管) 在运动驱动的进出口中起着重要作用^[97]。在海马原代神经元培养物中的研究表明, 在神经元活动期间, 微管可以从树突轴移动到树突棘并调节突触结构和功能^[98-101]。Stathmin 是微管不稳定调节蛋白家族的成员, 具有促进微管解聚的能力, 但是条件恐惧诱导会使 stathmin Ser25 和 Ser38 被磷酸化后释放微管蛋白二聚体, 从而促进微管聚合^[102]。研究表明, stathmin 通过 KIF5 调节 AMPAR 的 GluA2 亚基转运, 导致突触位点 GluA2

的增加, 从而增强了突触可塑性和长期记忆, 并且 *stathmin*^{-/-} 缺失的小鼠长期记忆受到损害^[103]。虽然肌动蛋白和微管在突触的形态改变中都具有重要作用, 但由于微管调节在恐惧记忆形成过程中的功能研究较少, 因此还需进一步完善。

恐惧记忆的分子机制研究为神经相关疾病如 PTSD 和焦虑症的治疗提供了理论基础^[104]。为了通过靶向记忆过程改善 PTSD 治疗, 有必要在分子水平上进一步研究恐惧记忆的调控机制, 以便确定更有效的靶点, 从而能够对记忆过程进行人工调节。当前针对 PTSD 的药物治疗可能部分通过其对突触连接的影响而起作用^[105]。例如, 氯胺酮的治疗效果取决于 AMPAR 的早期和持续活化, AMPAR 表面扩散很容易受到蛋白质间相互作用的影响, 因此该机制被认为可能是突触增强和学习的调控靶点^[106]。但是, 动物实验和临床应用之间仍然存在很大差距。因此, 恐惧记忆再巩固干预措施的有效性和特异性的进一步研究可能具有重要的治疗意义, 并可为治疗 PTSD 和其他恐惧症提供候选药物。

[参 考 文 献]

- [1] Norrholm SD, Jovanovic T. Fear processing, psychophysiology, and PTSD. *Harv Rev Psychiatry*, 2018, 26: 129-41
- [2] Kim WB, Cho JH. Encoding of contextual fear memory in hippocampal-amygdala circuit. *Nat Commun*, 2020, 11: 1-22
- [3] Haider S, Batool Z, Rafiq S. Method for the identification of pharmacological intervention for the disruption of fear memory in PTSD-rat model. *MethodsX*, 2020, 7: 1-9
- [4] Sun Y, Gooch H, Sah P. Fear conditioning and the basolateral amygdala. *F1000Res*, 2020, 9: 1-8
- [5] Zhang X, Kim J, Tonegawa S. Amygdala reward neurons form and store fear extinction memory. *Neuron*, 2020, 105: 1077-93
- [6] Jimenez JC, Berry JE, Lim SC, et al. Contextual fear memory retrieval by correlated ensembles of ventral CA1 neurons. *Nat Commun*, 2020, 11: 1-11
- [7] Yang Y, Liu DQ, Huang W, et al. Selective synaptic remodeling of amygdalocortical connections associated with fear memory. *Nat Neurosci*, 2016, 19: 1-43
- [8] Corches A, Hiroto A, Bailey TW, et al. Differential fear conditioning generates prefrontal neural ensembles of safety signals. *Behav Brain Res*, 2019, 360: 169-84
- [9] Bloodgood DW, Sugam JA, Holmes A, et al. Fear extinction requires infralimbic cortex projections to the basolateral amygdala. *Transl Psychiatry*, 2018, 8: 1-11
- [10] Qin C, Bian XL, Cai CY, et al. Uncoupling nNOS-PSD-95 in the ACC can inhibit contextual fear generalization. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 513: 248-54
- [11] Chen M, Bi LL. Optogenetic long-term depression induction in the PVT-CeL circuitry mediates decreased

- fear memory. *Mol Neurobiol*, 2019, 56: 4855-65
- [12] Zhang Y, Zhu Y, Cao SX, et al. MeCP2 in cholinergic interneurons of nucleus accumbens regulates fear learning. *eLife*, 2020, 9: 1-21
- [13] Josselyn SA, Tonegawa S. Memory engrams: recalling the past and imagining the future. *Science*, 2020, 367: 1-40
- [14] Rao-Ruiz P, Couey JJ, Marcelo IM, et al. Engram-specific transcriptome profiling of contextual memory consolidation. *Nat Commun*, 2019, 10: 1-14
- [15] Choi JH, Sim SE, Kim JI, et al. Interregional synaptic maps among engram cells underlie memory formation. *Science*, 2018, 360: 430-5
- [16] Hebb DO. *The organization of behaviour* [M]. New York: Wiley, 1949, 25: 575-7
- [17] Bliss TV, Lomo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol*, 1973, 232: 331-56
- [18] Magee JC, Johnston D. A synaptically controlled, associative signal for Hebbian plasticity in hippocampal neurons. *Science*, 1997, 275: 209-13
- [19] Malenka RC, Nicoll RA. Long-term potentiation--a decade of progress? *Science*, 1999, 285: 1870-4
- [20] Luchkina NV, Bolshakov VY. Mechanisms of fear learning and extinction: synaptic plasticity-fear memory connection. *Psychopharmacology (Berl)*, 2019, 236: 163-82
- [21] Çalışkan G, Stork O. Hippocampal network oscillations as mediators of behavioural metaplasticity: insights from emotional learning. *Neurobiol Learn Mem*, 2018, 154: 37-53
- [22] Fiebig F, Herman P, Lansner A. An indexing theory for working memory based on fast Hebbian plasticity. *eNeuro*, 2020, 7: 1-22
- [23] Bazzari AH, Parri HR. Neuromodulators and long-term synaptic plasticity in learning and memory: a steered-glutamatergic perspective. *Brain Sci*, 2019, 9: 1-34
- [24] Simbriger K, Amorim IS, Lach G, et al. Uncovering memory-related gene expression in contextual fear conditioning using ribosome profiling. *Prog Neurobiol*, 2021, 197: 1-9
- [25] Sibarov DA, Antonov SM. Calcium-dependent desensitization of NMDA receptors. *Biochemistry (Mosc)*, 2018, 83: 1173-83
- [26] Orsini CA, Maren S. Neural and cellular mechanisms of fear and extinction memory formation. *Neurosci Biobehav Rev*, 2012, 36: 1773-802
- [27] Ferrer Monti RI, Giachero M, Alfei JM, et al. An appetitive experience after fear memory destabilization attenuates fear retention: involvement GluN2B-NMDA receptors in the Basolateral Amygdala Complex. *Learn Mem*, 2016, 23: 465-78
- [28] Purkey AM, Dell'Acqua ML. Phosphorylation-dependent regulation of Ca²⁺-permeable AMPA receptors during hippocampal synaptic plasticity. *Front Synaptic Neurosci*, 2020, 12: 1-24
- [29] Kim M, Campeau S, Falls WA, et al. Infusion of the non-NMDA receptor antagonist CNQX into the amygdala blocks the expression of fear-potentiated startle. *Behav Neural Biol*, 1993, 59: 5-8
- [30] Walker DL, Davis M. Double dissociation between the involvement of the bed nucleus of the stria terminalis and the central nucleus of the amygdala in startle increases produced by conditioned versus unconditioned fear. *J Neurosci*, 1997, 17: 9375-83
- [31] Rogan MT, Stäubli UV, LeDoux JE. AMPA receptor facilitation accelerates fear learning without altering the level of conditioned fear acquired. *J Neurosci*, 1997, 17: 5928-35
- [32] Diering GH, Huganir RL. The AMPA receptor code of synaptic plasticity. *Neuron*, 2018, 100: 314-29
- [33] Barnes JR, Mukherjee B, Rogers BC, et al. The relationship between glutamate dynamics and activity-dependent synaptic plasticity. *J Neurosci*, 2020, 40: 2793-807
- [34] Bauer EP, Schafe GE, LeDoux JE. NMDA receptors and L-type voltage-gated calcium channels contribute to long-term potentiation and different components of fear memory formation in the lateral amygdala. *J Neurosci*, 2002, 22: 5239-49
- [35] Miller SG, Kennedy MB. Regulation of brain type II Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase by autophosphorylation: a Ca²⁺-triggered molecular switch. *Cell*, 1986, 44: 861-70
- [36] Woolfrey KM, O'Leary H, Goodell DJ, et al. CaMKII regulates the dephosphorylation and synaptic removal of the scaffold protein AKAP79/150 to mediate structural long-term depression. *J Biol Chem*, 2018, 293: 1551-67
- [37] Murakoshi H, Shin ME, Parra Bueno P, et al. Kinetics of endogenous CaMKII required for synaptic plasticity revealed by optogenetic kinase inhibitor. *Neuron*, 2017, 94: 37-47
- [38] Sanhueza M, Fernandez Villalobos G, Stein IS, et al. Role of the CaMKII/NMDA receptor complex in the maintenance of synaptic strength. *J Neurosci*, 2011, 31: 9170-8
- [39] Barcomb K, Hell JW, Benke TA, et al. The CaMKII/GluN2B protein interaction maintains synaptic strength. *J Biol Chem*, 2016, 291: 16082-9
- [40] Rodrigues SM, Farb CR, Bauer EP, et al. Pavlovian fear conditioning regulates Thr286 autophosphorylation of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II at lateral amygdala synapses. *J Neurosci*, 2004, 24: 3281-8
- [41] Chang JY, Parra Bueno P, Laviv T, et al. CaMKII autophosphorylation is necessary for optimal integration of Ca²⁺ signals during LTP induction, but not maintenance. *Neuron*, 2017, 94: 800-8
- [42] Mayford M, Bach ME, Huang YY, et al. Control of memory formation through regulated expression of a CaMKII transgene. *Science*, 1996, 274: 1678-83
- [43] Yamagata Y, Yanagawa Y, Imoto K. Differential involvement of kinase activity of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II α in hippocampus- and amygdala-dependent memory revealed by kinase-dead knock-in mouse. *eNeuro*, 2018, 5: 1-15
- [44] Lengyel I, Voss K, Cammarota M, et al. Autonomous

- activity of CaMKII is only transiently increased following the induction of long-term potentiation in the rat hippocampus. *Eur J Neurosci*, 2004, 20: 3063-72
- [45] Lee SJ, Escobedo Lozoya Y, Szatmari EM, et al. Activation of CaMKII in single dendritic spines during long-term potentiation. *Nature*, 2009, 458: 299-304
- [46] Irvine EE, von Hertzen LS, Plattner F, et al. α CaMKII autophosphorylation: a fast track to memory. *Trends Neurosci*, 2006, 29: 459-65
- [47] Hudmon A, Schulman H. Structure-function of the multifunctional Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II. *Biochem J*, 2002, 364: 593-611
- [48] Lin YC, Redmond L. CaMKII β binding to stable F-actin *in vivo* regulates F-actin filament stability. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 15791-6
- [49] Kim K, Suzuki A, Kojima H, et al. Autophosphorylation of F-actin binding domain of CaMKII β is required for fear learning. *Neurobiol Learn Mem*, 2019, 157: 86-95
- [50] Borgesius NZ, van Woerden GM, Buitendijk GH, et al. β CaMKII plays a nonenzymatic role in hippocampal synaptic plasticity and learning by targeting α CaMKII to synapses. *J Neurosci*, 2011, 31: 10141-8
- [51] Lee J, Lee HR, Kim JI, et al. Transient cAMP elevation during systems consolidation enhances remote contextual fear memory. *Neurobiol Learn Mem*, 2020, 169: 1-7
- [52] Schafe GE, LeDoux JE. Memory consolidation of auditory pavlovian fear conditioning requires protein synthesis and protein kinase A in the amygdala. *J Neurosci*, 2000, 20: 1-5
- [53] Vossler MR, Yao H, York RD, et al. cAMP activates MAP kinase and Elk-1 through a B-Raf- and Rap1-dependent pathway. *Cell*, 1997, 89: 73-82
- [54] Knox D, Della Valle R, Mohammadmirzaei N, et al. PI3K-Akt signaling in the basolateral amygdala facilitates traumatic stress enhancements in fear memory. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2020, 1: 1-30
- [55] Fukushima H, Zhang Y, Kida S. Active transition of fear memory phase from reconsolidation to extinction through ERK-mediated prevention of reconsolidation. *J Neurosci*, 2020, 6: 1288-300
- [56] Nader K, Schafe GE, Doux JEL. Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature*, 2000, 406: 722-6
- [57] Satoh Y, Endo S, Ikeda T, et al. Extracellular signal-regulated kinase 2 (ERK2) knockdown mice show deficits in long-term memory; ERK2 has a specific function in learning and memory. *J Neurosci*, 2007, 27: 10765-76
- [58] Sui L, Wang J, Li BM. Role of the phosphoinositide 3-kinase-Akt-mammalian target of the rapamycin signaling pathway in long-term potentiation and trace fear conditioning memory in rat medial prefrontal cortex. *Learn Mem*, 2008, 15: 762-76
- [59] Slouzkey I, Maroun M. PI3-kinase cascade has a differential role in acquisition and extinction of conditioned fear memory in juvenile and adult rats. *Learn Mem*, 2016, 23: 723-31
- [60] Sacktor TC, Osten P, Valsamis H, et al. Persistent activation of the ζ isoform of protein kinase C in the maintenance of long-term potentiation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 8342-6
- [61] Hartsink-Segers SA, Beaudoin JJ, Luijendijk MW, et al. PKC ζ and PKM ζ are overexpressed in TCF3-rearranged paediatric acute lymphoblastic leukaemia and are associated with increased thiopurine sensitivity. *Leukemia*, 2015, 29: 304-11
- [62] Ling DS, Benardo LS, Sacktor TC. Protein kinase M ζ enhances excitatory synaptic transmission by increasing the number of active postsynaptic AMPA receptors. *Hippocampus*, 2006, 16: 443-52
- [63] Evuarherhe O, Barker GRI, Savalli G, et al. Early memory formation disrupted by atypical PKC inhibitor ZIP in the medial prefrontal cortex but not hippocampus. *Hippocampus*, 2014, 24: 934-42
- [64] Thompson WE, Ramalho Santos J, Sutovsky P. Ubiquitination of prohibitin in mammalian sperm mitochondria: possible roles in the regulation of mitochondrial inheritance and sperm quality control. *Biol Reprod*, 2003, 69: 254-60
- [65] Ko HG, Kim JI, Sim SE, et al. The role of nuclear PKM ζ in memory maintenance. *Neurobiol Learn Mem*, 2016, 135: 50-6
- [66] Sacktor TC, Hell JW. The genetics of PKM ζ and memory maintenance. *Sci Signal*, 2017, 10: 1-15
- [67] Koga Y, Tsurumaki H, Aoki-Saito H. Roles of cyclic AMP response element binding activation in the ERK1/2 and p38 MAPK signalling pathway in central nervous system, cardiovascular system, osteoclast differentiation and mucin and cytokine production. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 1-23
- [68] Wallace TL, Stellitano KE, Neve RL, et al. Effects of cyclic adenosine monophosphate response element binding protein overexpression in the basolateral amygdala on behavioral models of depression and anxiety. *Biol Psychiatry*, 2004, 56: 151-60
- [69] Davis S, Vanhoutte P, Pages C, et al. The MAPK/ERK cascade targets both Elk-1 and cAMP response element-binding protein to control long-term potentiation-dependent gene expression in the dentate gyrus *in vivo*. *J Neurosci*, 2000, 20: 4563-72
- [70] Huang YY, Martin KC, Kandel ER. Both protein kinase A and mitogen-activated protein kinase are required in the amygdala for the macromolecular synthesis-dependent late phase of long-term potentiation. *J Neurosci*, 2000, 20: 6317-25
- [71] Wei F, Qiu CS, Liauw J, et al. Calcium calmodulin-dependent protein kinase IV is required for fear memory. *Nat Neurosci*, 2002, 5: 573-9
- [72] Pereyra M, Katche C, de Landeta AB, et al. mTORC1 controls long-term memory retrieval. *Sci Rep*, 2018, 8: 1-10
- [73] Heroux NA, Osborne BF, Miller LA, et al. Differential expression of the immediate early genes c-Fos, Arc, Egr-1, and Npas4 during long-term memory formation in the context preexposure facilitation effect (CPFE). *Neurobiol Learn Mem*, 2018, 147: 128-38

- [74] Yeh SH, Lin CH, Gean PW. Acetylation of nuclear factor- κ B in rat amygdala improves long-term but not short-term retention of fear memory. *Mol Pharmacol*, 2004, 65: 1286-92
- [75] Medina C, de la Fuente V, Tom Dieck S, et al. LIMK, Cofilin 1 and actin dynamics involvement in fear memory processing. *Neurobiol Learn Mem*, 2020, 173: 1-13
- [76] Lai CSW, Adler A, Gan WB. Fear extinction reverses dendritic spine formation induced by fear conditioning in the mouse auditory cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115: 9306-11
- [77] Majewska AK, Brown E, Ross J, et al. Mechanisms of calcium decay kinetics in hippocampal spines: role of spine calcium pumps and calcium diffusion through the spine neck in biochemical compartmentalization. *J Neurosci*, 2000, 20: 1722-34
- [78] Sarowar T, Grabrucker AM. Actin-dependent alterations of dendritic spine morphology in shankopathies. *Neural Plast*, 2016, 2016: 1-15
- [79] Sarowar T, Grabrucker AM. Rho GTPases in the amygdala—a switch for fears? *Cells*, 2020, 9: 1-19
- [80] Costa JF, Dines M, Lamprecht R. The role of Rac GTPase in dendritic spine morphogenesis and memory. *Front Synaptic Neurosci*, 2020, 12: 1-14
- [81] Nakayama AY, Harms MB, Luo L. Small GTPases Rac and Rho in the maintenance of dendritic spines and branches in hippocampal pyramidal neurons. *J Neurosci*, 2000, 20: 5329-38
- [82] Gao Q, Yao W, Wang J, et al. Post-training activation of Rac1 in the basolateral amygdala is required for the formation of both short-term and long-term auditory fear memory. *Front Mol Neurosci*, 2015, 8: 1-10
- [83] Kim IH, Wang H, Soderling SH, et al. Loss of Cdc42 leads to defects in synaptic plasticity and remote memory recall. *eLife*, 2014, 3: 1-16
- [84] Murakoshi H, Wang H, Yasuda R. Local, persistent activation of Rho GTPases during plasticity of single dendritic spines. *Nature*, 2011, 472: 100-4
- [85] Duman JG, Mulharker S, Tu YK, et al. Mechanisms for spatiotemporal regulation of Rho-GTPase signaling at synapses. *Neurosci Lett*, 2015, 601: 4-10
- [86] Yan J, Pan Y, Zheng X, et al. Comparative study of ROCK1 and ROCK2 in hippocampal spine formation and synaptic function. *Neurosci Bull*, 2019, 35: 649-60
- [87] Redolfi N, Galla L, Maset A, et al. Oligophrenin-1 regulates number, morphology and synaptic properties of adult-born inhibitory interneurons in the olfactory bulb. *Hum Mol Genet*, 2016, 25: 5198-211
- [88] Lunardi P, Sachser RM, Sierra RO, et al. Effects of hippocampal LIMK inhibition on memory acquisition, consolidation, retrieval, reconsolidation, and extinction. *Mol Neurobiol*, 2018, 55: 958-67
- [89] Todorovski Z, Asrar S, Liu J, et al. LIMK1 regulates long-term memory and synaptic plasticity via the transcriptional factor CREB. *Mol Cell Biol*, 2015, 35: 1316-28
- [90] Rodrigues SM, Schafe GE, LeDoux JE. Molecular mechanisms underlying emotional learning and memory in the lateral amygdala. *Neuron*, 2004, 44: 75-91
- [91] Huang B, Zhu H, Zhou Y, et al. Unconditioned- and conditioned- stimuli induce differential memory reconsolidation and β -AR-dependent CREB activation. *Front Neural Circuits*, 2017, 11: 1-10
- [92] Izquierdo I, Furini CRG, Myskiw JC. Fear memory. *Physiol Rev*, 2016, 96: 695-750
- [93] Takeuchi T, Duzskiewicz AJ, Morris RGM. The synaptic plasticity and memory hypothesis: encoding, storage and persistence. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2013, 369: 1-14
- [94] Nicoll RA. A brief history of long-term potentiation. *Neuron*, 2017, 93: 281-90
- [95] Schuette SR, Fernández Fernández D, Lamla T, et al. Overexpression of protein kinase M ζ in the hippocampus enhances long-term potentiation and long-term contextual but not cued fear memory in rats. *J Neurosci*, 2016, 36: 4313-24
- [96] Volk LJ, Bachman JL, Johnson R, et al. PKM- ζ is not required for hippocampal synaptic plasticity, learning and memory. *Nature*, 2013, 493: 420-3
- [97] Hirokawa N, Niwa S, Tanaka Y. Molecular motors in neurons: transport mechanisms and roles in brain function, development, and disease. *Neuron*, 2010, 68: 610-38
- [98] Gu J, Firestein BL, Zheng JQ. Microtubules in dendritic spine development. *J Neurosci*, 2008, 28: 12120-4
- [99] Gu J, Zheng JQ. Microtubules in dendritic spine development and plasticity. *Open Neurosci J*, 2009, 3: 128-33
- [100] Jaworski J, Kapitein LC, Gouveia SM, et al. Dynamic microtubules regulate dendritic spine morphology and synaptic plasticity. *Neuron*, 2009, 61: 85-100
- [101] Hu X, Viesselmann C, Nam S, et al. Activity-dependent dynamic microtubule invasion of dendritic spines. *J Neurosci*, 2008, 28: 13094-105
- [102] Shan W, Han F, Xu Y, et al. Stathmin regulates spatiotemporal variation in the memory loop in single-prolonged stress rats. *J Mol Neurosci*, 2020, 70: 576-89
- [103] Uchida S, Martel G, Pavlowsky A, et al. Learning-induced and stathmin-dependent changes in microtubule stability are critical for memory and disrupted in ageing. *Nat Commun*, 2014, 5: 1-30
- [104] Kida S. Reconsolidation/destabilization, extinction and forgetting of fear memory as therapeutic targets for PTSD. *Psychopharmacology (Berl)*, 2019, 236: 49-57
- [105] Raber J, Arzy S, Bertolus JB, et al. Current understanding of fear learning and memory in humans and animal models and the value of a linguistic approach for analyzing fear learning and memory in humans. *Neurosci Biobehav Rev*, 2019, 105: 136-77
- [106] Zanos P, Moaddel R, Morris PJ, et al. NMDAR inhibition-independent antidepressant actions of ketamine metabolites. *Nature*, 2016, 533: 481-6