

## 不同剂量天麻素对甲基苯丙胺依赖 CPP 大鼠海马中 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 炎症信号通路的影响

朱婷娜<sup>1,4)</sup>, 曹媛媛<sup>1)</sup>, 张园<sup>1)</sup>, 刘鹏亮<sup>2)</sup>, 王一航<sup>2)</sup>, 吴亚梅<sup>1)</sup>, 李利华<sup>2)</sup>, 赵永娜<sup>1,3)</sup>, 洪仕君<sup>2)</sup>

(1)昆明医科大学药学院暨云南省天然药物药理重点实验室; 2)法医学院;

3)国际教育学院, 云南昆明 650500; 4)云南省食品药品监督检验研究院, 云南昆明 650106)

**[摘要]** 目的 探讨不同剂量的天麻素(Gastrodin, Gas)对甲基苯丙胺(Methamphetamine, Meth)依赖条件性位置偏爱(Conditioned place preference, CPP)大鼠海马中 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 通路的作用。方法 建立 Meth (10 mg/kg, ip, 14 d)依赖大鼠 CPP 模型, 采用低中高剂量的天麻素(10、30、100 mg/kg)干预 14 d 后, 采用 Western blotting 和 RT-qPCR 方法检测 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 信号通路中关键因子的蛋白和 mRNA 在海马中的表达水平。结果 天麻素干预后 TLR4、MyD88、NF- $\kappa$ B p65、TRAF6 的蛋白和 mRNA 表达呈剂量依赖性降低 ( $P < 0.001$ 、 $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ )、p-NF- $\kappa$ B p65 的蛋白表达呈剂量依赖性降低 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ )、I $\kappa$ B- $\alpha$  的蛋白和 mRNA 表达呈剂量依赖性升高 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ), 天麻素干预后 p-I $\kappa$ B- $\alpha$  的蛋白表达降低 ( $P < 0.01$ )。结论 天麻素干预对甲基苯丙胺依赖 CPP 大鼠海马的神经炎症具有保护作用, 且与 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 信号通路密切相关。

**[关键词]** 甲基苯丙胺依赖; 条件性位置偏爱; 海马; 天麻素; TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 信号转导通路

**[中图分类号]** R964 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2023)02-0033-07

## Effects of Different Doses of Gastrodin on TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B Inflammatory Signal Pathway in Hippocampus of Methamphetamine Dependent CPP Rats

ZHU Tingna<sup>1,4)</sup>, CAO Yuanyuan<sup>1)</sup>, ZHANG Yuan<sup>1)</sup>, LIU Pengliang<sup>2)</sup>, WANG Yihang<sup>2)</sup>,

WU Yamei<sup>1)</sup>, LI Lihua<sup>2)</sup>, ZHAO Yongna<sup>1,3)</sup>, HONG Shijun<sup>2)</sup>

(1) School of Pharmaceutical Sciences & Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products; 2) School of Forensic Medicine; 3) School of International Education, Kunming Medical University, Kunming, Yunnan 650500; 4) Yunnan Institute for Food and Drug Control, Kunming Yunnan 650106, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effects of different dosages of gastrodin on TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B signal pathway in the hippocampus of methamphetamine (meth) dependence rats. **Methods** The conditioned place preference (CPP) model of meth was established, meth (10mg/kg) was administered (ip, 14 d), and then, different dosages (10, 30, 100 mg/kg) of gastrodin were used to intervene in 14 days. Western blotting and RT-qPCR were used to explore the expression level of protein and mRNA of key factors in TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B signal pathway in hippocampus. **Results** Gastrodin decreased the protein and mRNA expression of TLR4, MyD88, TRAF6, NF- $\kappa$ B p65 in a dose-dependent manner ( $P < 0.001$ ,  $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ), and the protein expression of p-NF- $\kappa$ B p65 was reduced with showing a significant dose-response relationship ( $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ).

**[收稿日期]** 2022-12-19

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(81760337); 云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项基金资助项目[2019FE001(-163)]

**[作者简介]** 朱婷娜(1994~), 女, 云南宣威人, 硕士, 主要从事神经药理学研究工作。

**[通信作者]** 赵永娜, E-mail: mszhaoyan@163.com; 洪仕君, E-mail: kmhongshijun@126.com

Gastrodin increased the protein and mRNA expression of I $\kappa$ B- $\alpha$  with showing a significant dose-response relationship ( $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ). Gastrodin reduced the protein expression of p-I $\kappa$ B- $\alpha$  ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** Gastrodin intervention has a protective effect against hippocampal neuroinflammation in methamphetamine-dependent CPP rats, and is closely related to the function of TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B signal pathway.

[**Key words**] Methamphetamine dependence; Conditioned place preference; Hippocampus; Gastrodin; TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B signal transduction pathway

甲基苯丙胺(Methamphetamine, Meth)具有强效的成瘾性,在全世界范围内滥用,严重损害社会秩序和身体健康<sup>[1]</sup>。反复摄入Meth会对中枢神经系统造成众多负面影响,长期滥用Meth会激活胶质细胞,使炎症介质和毒性分子过度积累诱导神经毒性,同时改变大脑的结构和功能,导致大脑的认知功能发生障碍<sup>[2]</sup>。海马对药物成瘾的调节受到广泛关注,海马体在调节药物相关行为的联想记忆中起重要作用,而这些行为可能会在药物再次暴露时引起复发<sup>[3]</sup>。已有众多研究发现Meth滥用会导致海马结构和功能发生改变,诱导神经炎症的发生。神经炎症会改变神经元的兴奋性、可塑性,引发星形胶质细胞功能障碍,血脑屏障通透性受损和神经变性等一系列的过程,最终可能导致抑郁、精神障碍和认知障碍等神经精神疾病的发生<sup>[4-5]</sup>。Toll样4受体(Toll like receptor 4, TLR4)作为一个跨膜识别受体,主要是通过MyD88途径在免疫和炎症中发挥关键作用<sup>[6]</sup>。肿瘤坏死因子受体相关因子6(Tumor necrosis factor receptor associated factor 6, TRAF6)和磷酸化的NF- $\kappa$ B抑制因子(Inhibitor of NF- $\kappa$ B, I $\kappa$ B)是TLR4的下游蛋白,是炎症反应的进程和NF- $\kappa$ B转导过程中的重要调控因子<sup>[7-8]</sup>。NF- $\kappa$ B的活性程度与机体炎症反应的发生和众多生理功能的形成密切相关,其中p65是NF- $\kappa$ B的主要活性亚单位<sup>[9]</sup>。TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B通路可能参与Meth诱导的神经炎症的发生,该通路是探索炎症发生机制和选择药物治疗靶点的研究热点之一。

天麻素(Gastrodin, Gas)是从传统中药材天麻的根茎中经化学方法获得的生物活性化合物,具备安眠、抗炎、抗惊厥、改善学习与记忆的药理作用。大量研究发现,天麻素在治疗焦虑、抑郁、脑损伤等中枢神经系统疾病有重要作用。基于上述背景,天麻素的抗炎作用是否通过TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B这条经典的炎性通路发挥作用具有较大的研究价值。本研究拟采用不同剂量的天麻素干预CPP大鼠,探索天麻素是否通过对TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B通路关键因子的调控,而发挥对Meth依

赖CPP大鼠海马的保护作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

健康SD大鼠60只,雄性,体重(190 $\pm$ 10)g,购自昆明医科大学实验动物部[许可证号:SCXK(滇)K2015-002]。实验大鼠常规饲养,在实验开始前,先将大鼠放于CPP箱内适应性饲养3d。

### 1.2 实验主要药品和试剂

实验使用的Meth由云南省公安厅公安部重点实验室合法提供,经过萃取、分离纯化。干燥后将其制成盐酸盐晶体保存,纯度在98%以上。实验使用的天麻素纯度98.0%,由昆明医科大学生物医学工程中心陆地教授提供,为白色粉状物,室温干燥后保存。TLR4抗体(sc-293072、美国Santa Cruz Biotechnology公司); MyD88抗体(ab2064, 美国Abcam公司); NF- $\kappa$ B p65抗体(8142s、德国CST公司); p-NF- $\kappa$ B p65抗体(sc-136548、美国Santa Cruz Biotechnology公司); I $\kappa$ B- $\alpha$ 抗体(9242、德国CST公司); p-I $\kappa$ B- $\alpha$ 抗体(2859、德国CST公司); TRAF6抗体(66494、美国Proteintech公司);  $\beta$ -actin抗体(ab6276, 美国Abcam公司); HRP标记羊抗兔二抗(L3012、美国SAB公司); HRP标记羊抗鼠二抗(A21010、美国Abbkine公司); 荧光定量试剂盒(DBI-2043、德国DBI公司); BestarTMqPCR RT Kit(DBI-2220、德国DBI公司); 引物合成由擎科生物科技有限公司合成。

### 1.3 主要实验仪器

大鼠CPP实验箱(XR-XT401, 上海欣软信息技术有限公司); 酶标仪(Touch 2, 美国BioTek公司); 普通PCR仪、荧光定量PCR仪(T100<sup>TM</sup> Thermal Cycler、C1000 Touch<sup>TM</sup> Thermal Cycler, 美国Bio-Rad公司); 垂直电泳仪、半干转膜仪(552BR、221BR, 美国Bio-Rad公司)。

#### 1.4 动物分组及处理

实验动物以随机的形式被分为 6 组, 每组 10 只。这 6 组包括对照组、Meth 组、天麻素组、Meth+低中高剂量天麻素干预组(10、30、100 mg/kg)。对照组和 Meth 组分别给予 10 mg/kg 生理盐水和 10 mg/kg Meth; 天麻素组给予 100 mg/kg 天麻素。给药方式皆使用腹腔注射(intraperitonealinjection, IP), 1 次/d, 连续不间断给药 14 d。根据给药方法, Meth 依赖 CPP 大鼠模型建立成功<sup>[10]</sup>。Meth+低中高剂量天麻素干预组(10、30、100 mg/kg), 前 14 d 和 Meth 组操作相同; 在 Meth 依赖模型建立成功后, 根据组别分别予以对应剂量的天麻素(10、30、100 mg/kg)干预, 每天 1 次, 持续 14 d。

#### 1.5 CPP 实验

CPP 实验适应阶段(d1~3), 打开 2 个箱体之间的隔板, 让大鼠自由探索, 每次 30 min, 每日 1 次。在 d4, 让大鼠在 CPP 箱内训练 15 min, 测定每只大鼠 15 min 内在两箱的停留时间, 评判大鼠的天然偏爱性, 将大鼠停留时间短的箱体指定为伴药箱。CPP 训练阶段(Day5~Day18), 封闭 2 箱体连接通道, 连续 14 d 对大鼠采用腹腔注射后, 立刻放入伴药箱进行适应 30 min。d19, 将隔板打开, 使大鼠在 CPP 箱体内自由探索 15 min, 测定大鼠在伴药箱的停留时间。天麻素干预阶段(d20~35), 确保大鼠产生 CPP 效应后, 再采用低中高剂量的天麻素(10、30、100 mg/kg)连续不间断干预 14 d, 干预结束后再将大鼠放入箱体内进行

CPP 测试, 用时 15 min。

#### 1.6 实验大鼠海马组织取材

CPP 测试结束后, 经乙醚吸入麻醉所有大鼠, 暴露其胸腔和腹腔, 灌注生理盐水至肝脏发白, 断头取出全脑, 参照《大鼠立体定位图谱》(第 2 版), 暴露海马组织并分离, -80 °C 保存备用。

#### 1.7 Western Blot 实验

将海马组织清洗剪碎, 加入适量 RIPA 组织裂解液, 将组织超声破碎后室温放置 30 min, 每 10 min 上下振摇 1 次。离心 15 min 后进行蛋白定量分析。进行电泳、转膜、封闭、一抗孵育(抗体配制比例除  $\beta$ -actin 为 1:10000, TLR4、MyD88、TRAF6、I $\kappa$ B- $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B p65、p-NF- $\kappa$ B p65、p-I $\kappa$ B- $\alpha$  配制比例均为 1:1000), 置于 4 °C 孵育过夜。洗膜后孵育二抗(室温/2 h), 再次洗膜, 利用 ECL 显影。以  $\beta$ -actin 作为标准化的对照。Image J 软件计算条带的平均灰度值(OD 值)。

#### 1.8 荧光定量 PCR 实验

海马组织中加入适量 Trizol 裂解液, 获取组织内总 RNA, 使用酶标仪测定 RNA 浓度, 一般测定两次取平均值。之后按照说明书逆转录合成 cDNA。之后扩增目标基因, 经预变性(5 min/94 °C), 变性(10 s/94 °C), 退火(10 s/53 °C), 延伸(20 s/60 °C)共展开 40 个循环。完成后检测得到扩增曲线从而计算出 Ct 值。目标基因相对表达量采取  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法进行计算。引物序列, 见表 1。

表 1 引物序列

Tab. 1 Primer Sequences

基因名称	引物序列	Tm
TLR4	上游引物: 5'-TGCCTGAGACCAGGAAGCTTG 3'	54 °C
	下游引物: 5'-CTTAAGATCTTCAGGGGGTTG3'	
MyD88	上游引物: 5'-TGAGAAAAGGTGTCGTCGCA3'	54 °C
	下游引物: 5'-GGGTCCAGAACCAGGACTTG'	
TRAF6	上游引物: 5'-GCCCATGCCGTATGAAGAGA 3'	54 °C
	下游引物: 5'-CGTGACAGCCAAACACACTG3'	
NF- $\kappa$ B p65	上游引物: 5'-GAGACCTGGAGCAAGCCATT3'	54 °C
	下游引物: 5'-AGTTCCGGTTTACTCGGCAG3'	
I $\kappa$ B- $\alpha$	上游引物: 5'-GAATCCTGACCTGGTCTCGC'	55 °C
	下游引物: 5'-CACAGTCATCGTAGGGCAACT3'	
$\beta$ -actin	上游引物: 5'-AGACAGCCGCATCTTGT-3'	55 °C
	下游引物: 5'-CTTGCCGTGGGTAGAGTCAT-3'	

#### 1.9 统计学处理

使用 SPSS 19.0、GraphPad Prism 5.0 等软件

进行数据处理, 实验数据以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 采取单因素方差分析及 *t* 检验对数据进行

比较分析。以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

实验结果见图 1、图 2，与对照组比较，Meth 组 TLR4、MyD88、TRAF6、NF- $\kappa$ B p65 的蛋白和 mRNA 表达均升高 ( $P < 0.01$ 、 $P < 0.05$  或  $P < 0.001$ )，p-NF- $\kappa$ B p65、p-I $\kappa$ B- $\alpha$  的蛋白表达升高 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ )，I $\kappa$ B- $\alpha$  蛋白和 mRNA 表达均降低 ( $P < 0.01$ )。与 Meth 组相比，经低中高不同剂量的天麻素 (10、30、100 mg/kg) 持续作用 14 d 后，天麻素呈剂量相关性地升高了

I $\kappa$ B- $\alpha$  的蛋白和 mRNA 表达 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ )。TLR4、MyD88、TRAF6、NF- $\kappa$ B p65 的蛋白和 mRNA 表达 ( $P < 0.001$ 、 $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ) 与 p-NF- $\kappa$ B p65 的蛋白表达 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ) 均降低，且与天麻素给药呈剂量相关性。p-I $\kappa$ B- $\alpha$  的蛋白表达降低 ( $P < 0.01$ )。

## 3 讨论

甲基苯丙胺作为一种高度成瘾的精神兴奋剂，是世界上滥用最广泛的药物之一。持续使用 Meth 会导致神经退行性病变和认知功能障碍，炎症可

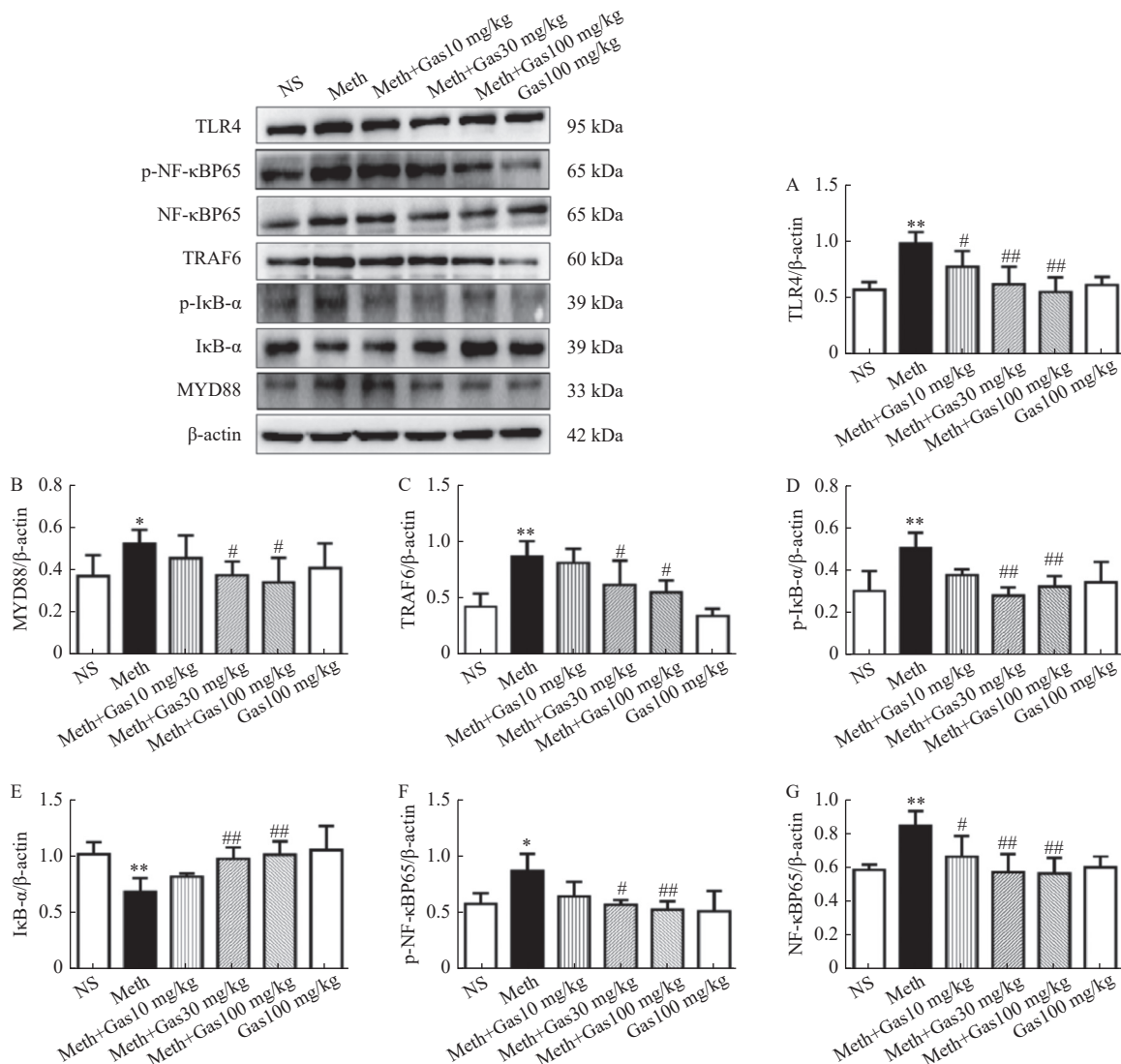


图 1 不同剂量天麻素对甲基苯丙胺依赖 CPP 大鼠海马 TLR4、MyD88、TRAF6、p-I $\kappa$ B- $\alpha$ 、I $\kappa$ B- $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B p65、p-NF- $\kappa$ B p65 蛋白表达的影响

Fig. 1 The effect of different doses of gastrodin on the expression of TLR4, MyD88, TRAF6, p-I $\kappa$ B- $\alpha$ , I $\kappa$ B- $\alpha$ , p-NF- $\kappa$ B p65, NF- $\kappa$ B p65 proteins in the hippocampus of methamphetamine-dependent rats

A ~ G: TLR4、MyD88、TRAF6、p-I $\kappa$ B- $\alpha$ 、I $\kappa$ B- $\alpha$ 、p-NF- $\kappa$ B p65、NF- $\kappa$ B p65 蛋白的定量分析。与对照组比较，\* $P < 0.05$ ；\*\* $P < 0.01$ ；与 Meth 组比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$ 。

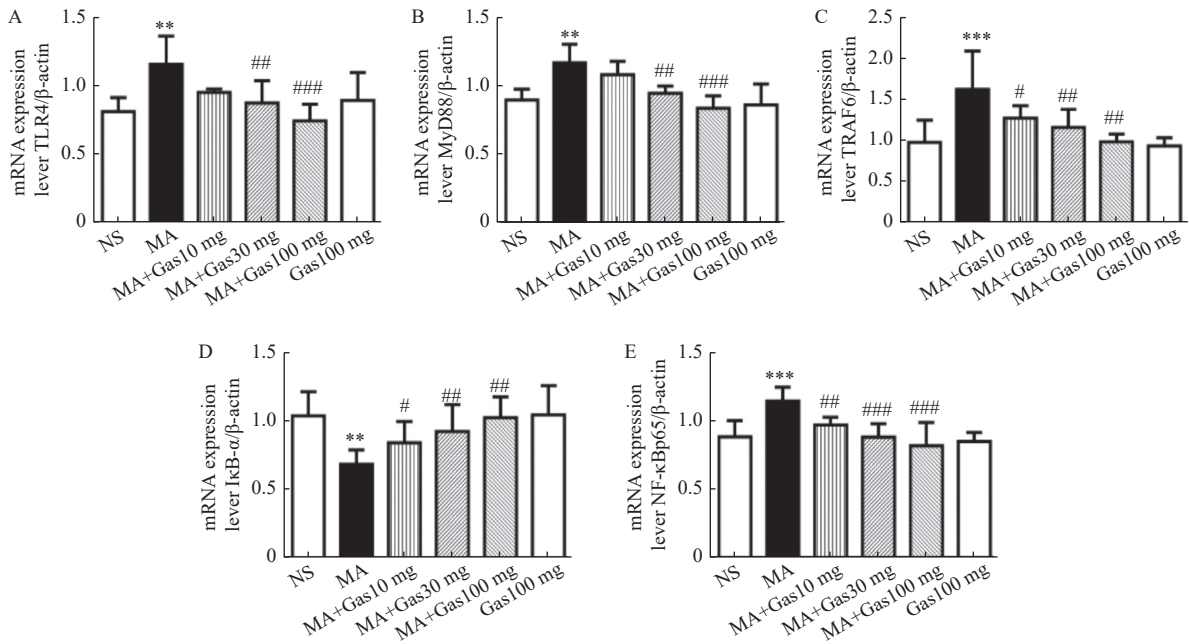


图 2 不同剂量天麻素对 Meth 依赖大鼠海马 TLR4、MyD88、TRAF6、I $\kappa$ B- $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B p65 mRNA 表达的影响

Fig. 2 The effect of different doses of gastrodin on the mRNA expression of TLR4, MyD88, TRAF6, I $\kappa$ B- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B p65 in the hippocampus of meth-dependent rats

A-E: TLR4、MyD88、TRAF6、I $\kappa$ B- $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B p65 mRNA 的定量分析。与对照组比较, \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ 。与 Meth 组比较, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ , ### $P < 0.001$ 。

能是 Meth 导致神经毒性的一个重要原因。大量研究表明, Meth 通过激活小胶质细胞, 影响海马等大脑相关区域炎症因子的变化, 最终影响海马的多种生理功能<sup>[3, 11-13]</sup>。海马是大脑中与学习和记忆密切相关的脑区, 在研究成瘾物质的复吸性和成瘾记忆形成方面有着重要价值<sup>[14]</sup>。CPP 模型是研究情景关联和奖励相关行为的经典动物模型<sup>[15-17]</sup>。本研究通过连续不间断给予 10 mg/kg Meth 14d (ip, qd) 成功建立 Meth 依赖 CPP 大鼠模型。

TLR4 作为天然免疫识别受体, 通过 MyD88 通路发挥作用。其过程为 TLR4 与 MyD88 桥接, 其中涉及 TRAF6 的激活, 增强 I $\kappa$ B 的磷酸化, 从而导致 NF- $\kappa$ B 级联的活化<sup>[18, 19]</sup>。TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 信号的过度活化可引起机体产生大量炎性物质, 从而诱发或加重神经炎症反应。在 Meth 大鼠毒性模型中, 大鼠纹状体中的神经炎症反应与 TLR4、MyD88、TRAF6、NF- $\kappa$ B 等蛋白的高表达相关, 大鼠海马 CA1 区也会因炎症因子表达增加而产生神经炎症<sup>[8, 20]</sup>。Re G F 等<sup>[21]</sup>发现, 在急性戒断期间, Meth 会导致小鼠纹状体和海马释放的小胶质细胞活化和促炎细胞因子增加, 引起神经炎症。本研究采用 Western Blot 和 RT-qPCR 同时检测通路相关蛋白和 mRNA 的表达情况, 笔

者发现, 与空白对照组相比, Meth 组的通路相关蛋白和 mRNA 表达显著增加, 结果提示 Meth 激活 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 通路诱导 Meth 依赖大鼠海马产生神经炎症。天麻素是一种酚类糖苷, 具有镇静、抗眩晕、抗焦虑、改善记忆、抗炎、抑制胶质细胞活化等药理作用, 对神经系统疾病的治疗具有潜力<sup>[22]</sup>。现有研究表明<sup>[23-25]</sup>, 天麻素在炎症调控方面效果显著, 从而发挥神经保护作用。刘英杰等的研究以毛果芸香碱诱发癫痫大鼠为模型, 发现天麻素会产生抗炎作用, 主要表现在天麻素可降低大鼠海马组织中 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路关键蛋白的表达<sup>[26]</sup>。Mei Z X 等<sup>[27]</sup>的研究发现天麻素可降低先兆子痫引起的 MyD88 表达上调。文欢等<sup>[28]</sup>研究发现天麻素干预使 NF- $\kappa$ B p65、p-NF- $\kappa$ B p65 等炎症相关信号分子的表达下调, 从而减轻皮层神经细胞糖氧剥夺再复供的炎性损伤。Zheng X 等学者<sup>[29]</sup>研究发现天麻素通过影响 TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 通路改善由脂多糖诱导的大鼠海马神经炎症。课题组前期的研究也证实天麻素在 Meth 成瘾和 Meth 诱导的神经毒性损伤方面皆有积极意义<sup>[30-31]</sup>。因此, 从炎症方面着手对 Meth 依赖进行干预治疗或许有很好的效果。本研究发现, 与 Meth 组相比, 经低中高剂量的天麻素干预 14 d 后, Meth 依赖 CPP 大鼠海马中 TLR4、

MyD88、TRAF6、NF- $\kappa$ B p65 的蛋白和 mRNA 表达, p-NF- $\kappa$ B p65 的蛋白表达皆随天麻素剂量呈依赖性降低; I $\kappa$ B- $\alpha$  的蛋白和 mRNA 表达皆随天麻素剂量呈依赖性升高; p-I $\kappa$ B- $\alpha$  的蛋白表达降低。结果提示天麻素可通过抑制 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 通路关键因子的表达, 改善 Meth 依赖导致的神经炎症。本研究在 Meth 依赖大鼠 CPP 模型中通过蛋白和 mRNA 水平首次提出天麻素可通过抑制 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 通路关键因子的表达, 缓解 Meth 依赖导致的神经炎症。

综上所述, 本研究重点阐述不同剂量的天麻素对 Meth 依赖 CPP 大鼠的干预作用。研究发现, Meth 依赖诱导的神经炎症与 TLR4、MyD88、NF- $\kappa$ B 等蛋白的高表达相关, 天麻素可通过介导 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 信号转导通路, 调节 Meth 诱导的神经炎症, 发挥神经保护作用。进一步为天麻素对 Meth 依赖所致的神经炎症的治疗提供了新的思路。

#### [参考文献]

- [1] Jayanthi S, Daiwile A P, Cadet J L. Neurotoxicity of methamphetamine: Main effects and mechanisms[J]. *Experimental Neurology*, 2021, 344(10): 113795.
- [2] Mizoguchi H, Yamada K. Methamphetamine use causes cognitive impairment and altered decision-making[J]. *Neurochemistry international*, 2019, 124(3): 106-113.
- [3] Kang E, Wen Z, Song H, et al. Adult Neurogenesis and Psychiatric Disorders[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2016, 8(9): a019026.
- [4] 赵敏. 物质依赖与精神疾病的共病问题[J]. *中国药物滥用防治杂志*, 2013, 19(4): 187-189.
- [5] Suleymanova E M. Behavioral comorbidities of epilepsy and neuroinflammation: Evidence from experimental and clinical studies[J]. *Epilepsy & Behavior*, 2021, 117(4): 107869.
- [6] Fernández-Arjona Mar í a Del Mar, Grondona JM, Fernández-Llebrez P, et al. Microglial activation by microbial neuraminidase through TLR2 and TLR4 receptors[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2019, 16(1): 1-14.
- [7] Vargas A M, Rivera-Rodriguez DE, Martinez LR. Methamphetamine alters the TLR4 signaling pathway, NF- $\kappa$ B activation, and pro-inflammatory cytokine production in LPS-challenged NR-9460 microglia-like cells[J]. *Molecular Immunology*, 2020, 121(5): 159-166.
- [8] Xie X L, Zhou W T, Zhang K K, et al. METH-Induced Neurotoxicity Is Alleviated by Lactulose Pretreatment Through Suppressing Oxidative Stress and Neuroinflammation in Rat Striatum[J]. *Frontiers in Neuroscience*, 2018, 12(11): 802.
- [9] 房尚萍, 李海源, 丁磊, 等. 通过调节NF- $\kappa$ B通路中的I $\kappa$ B- $\alpha$ 抑制乳腺癌的研究进展[J]. *锦州医科大学学报*, 2021, 42(1): 104-108.
- [10] 朱婷娜, 刘鹏亮, 董文娟, 等. 不同剂量天麻素对甲基苯丙胺依赖大鼠条件位置偏爱及海马小胶质细胞激活的影响[J]. *昆明医科大学学报*, 2021, 42(5): 6-11.
- [11] Gonçalves J, Baptista S, Martins T, et al. Methamphetamine-induced neuroinflammation and neuronal dysfunction in the mice hippocampus: Preventive effect of indomethacin[J]. *The European Journal of Neuroscience*, 2010, 31(2): 315-326.
- [12] Mahmoudiasl G R, Abbaszadeh H A, Rezaei-Tavirani M, et al. Nod-like receptor protein 3 and nod-like receptor protein 1 inflammasome activation in the hippocampal region of postmortem methamphetamine chronic user[J]. *Bratislavske Lekarske Llisty*, 2019, 120(10): 769-776.
- [13] Gonçalves J, Leitão R A, Higuera-Matas A, et al. Extended-access methamphetamine self-administration elicits neuroinflammatory response along with blood-brain barrier breakdown[J]. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2017, 62(4): 306-317.
- [14] Andoh M, Ikegaya Y, Koyama R. Microglia modulate the structure and function of the hippocampus after early-life seizures[J]. *Journal of Pharmacological Sciences*, 2020, 144(4): 212-217.
- [15] Mckendrick G, Graziane N M. Drug-Induced Conditioned Place Preference and Its Practical Use in Substance Use Disorder Research[J]. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 2020, 14(1): 582147.
- [16] Bardo M T, Bevins R A. Conditioned place preference: what does it add to our preclinical understanding of drug reward?[J]. *Psychopharmacology*, 2000, 153(1): 31-43.
- [17] Green T A, Bardo M T. Opposite regulation of conditioned place preference and intravenous drug self-administration in rodent models: Motivational and non-motivational examples[J]. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*,

- 2020, 116(9): 89–98.
- [18] Qu H, Liu R, Chen J, et al. Aerobic Exercise Inhibits CUMS-Depressed Mice Hippocampal Inflammatory Response via Activating Hippocampal miR-223/TLR4/MyD88-NF- $\kappa$ B Pathway[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2020, 17(8): 2676.
- [19] Cui Y, Wang Y, Zhao D, et al. Loganin prevents BV-2 microglia cells from A $\beta$  (1–42)-induced inflammation via regulating TLR4/TRAF6/NF- $\kappa$ B axis[J]. *Cell Biology International*, 2018, 42(12): 1632–1642.
- [20] Garmabi B, Mohaddes R, Rezvani F, et al. Erythropoietin improve spatial memory impairment following methamphetamine neurotoxicity by inhibition of apoptosis, oxidative stress and neuroinflammation in CA1 area of hippocampus[J]. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 2022, 124(6): 102137.
- [21] Re GF, Li H, Yang JQ, et al. Exercise modulates central and peripheral inflammatory responses and ameliorates methamphetamine-induced anxiety-like symptoms in mice[J]. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2022, 15(8): 955799.
- [22] Du SH, Qiao DF, Chen CX, et al. Toll-Like Receptor 4 Mediates Methamphetamine-Induced Neuroinflammation through Caspase-11 Signaling Pathway in Astrocytes[J]. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2017, 10(12): 409.
- [23] Wang X, Chen L, Xu Y, et al. Gastrodin alleviates perioperative neurocognitive dysfunction of aged mice by suppressing neuroinflammation[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2021, 892(3): 173734.
- [24] Li S, Bian L, Fu X, et al. Gastrodin pretreatment alleviates rat brain injury caused by cerebral ischemic-reperfusion[J]. *Brain Research*, 2019, 1712(11): 207–216.
- [25] Ye T, Meng X, Wang R, et al. Gastrodin Alleviates Cognitive Dysfunction and Depressive-Like Behaviors by Inhibiting ER Stress and NLRP3 Inflammasome Activation in db/db Mice[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(12): 3977.
- [26] 刘英杰, 姜茜, 张胜娜. 天麻素对毛果芸香碱诱发的癫痫大鼠TLR4/NF- $\kappa$ B信号通路影响的研究[J]. *新中医*, 2020, 52(4): 1–6.
- [27] Mei Z, Huang B, Qian X, et al. Gastrodin improves pre-eclampsia-induced cell apoptosis by regulation of TLR4/NF- $\kappa$ B in rats[J]. *Food Science & Nutrition*, 2020, 8(2): 820–829.
- [28] 文欢, 张大燕, 王伟, 等. 天麻素对糖氧剥夺再复供皮层神经细胞NF- $\kappa$ B炎症级联信号通路表达的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(21): 104–111.
- [29] Zheng X, Gong T, Tang C, et al. Gastrodin improves neuroinflammation-induced cognitive dysfunction in rats by regulating NLRP3 inflammasome[J]. *BMC Anesthesiology*, 2022, 22(1): 1–13.
- [30] 薛凤麟, 洪仕君, 曾晓峰, 等. 天麻素注射液通过调节背侧纹状体miR-30a表达改善大鼠甲基苯丙胺成瘾的实验研究[J]. *中药药理与临床*, 2020, 36(1): 85–89.
- [31] 薛凤麟, 洪仕君, 曾晓峰, 等. 基于nNOS途径的天麻素注射液改善甲基苯丙胺诱导大鼠神经毒性损伤的作用机制研究[J]. *中国药房*, 2020, 31(10): 1171–1178.