

TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路对甲基苯丙胺 依赖 CPP 大鼠海马的影响

张园¹⁾, 朱婷娜¹⁾, 曹媛媛¹⁾, 刘鹏亮²⁾, 王一航²⁾, 吴亚梅¹⁾, 李利华²⁾, 赵永娜^{1,3)}, 洪仕君²⁾

(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)

[摘要] **目的** 研究 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路对甲基苯丙胺(methamphetamine, MA)依赖的条件性位置偏好(conditioned place preference, CPP)大鼠海马的影响, 同时采用特异性抑制剂 TAK-242 抑制 Toll 样 4 受体(Toll-like receptor 4, TLR4), 减轻 MA 依赖诱导的海马神经炎症。**方法** 建立 MA(10 mg/kg, ip, 14 d)依赖大鼠 CPP 模型, 分别为生理盐水组、MA 组、TAK-242 组、MA+TAK-242 组。TAK-242 组和 MA+TAK-242 组先分别腹腔注射抑制剂 TAK-242(3 mg/kg), 1h 后 MA+TAK-242 组再腹腔注射 MA(10 mg/kg)。采用 Western Blot 实验和采用荧光定量 PCR 实验检测 MA 依赖 CPP 大鼠海马中 TLR4、MyD88、TRAF6、I κ B- α 、p-I κ B- α 、NF- κ Bp65、p-NF- κ Bp65 蛋白的表达和 mRNA 表达。**结果** 与生理盐水组相比, MA 组 TLR4、MyD88、TRAF6、NF- κ Bp65 的蛋白和 mRNA 表达均升高($P < 0.001$ 或 $P < 0.01$), I κ B- α 的蛋白和 mRNA 表达下降($P < 0.01$), p-I κ B- α 、p-NF- κ Bp65 的表达升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 与 MA 组相比, MA+TAK-242 组 TLR4、MyD88、TRAF6、NF- κ Bp65 的蛋白和 mRNA 表达均下降($P < 0.001$ 、 $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), I κ B- α 的蛋白和 mRNA 表达升高($P < 0.01$), p-I κ B- α 、p-NF- κ Bp65 表达下降($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。**结论** MA 依赖可通过激活 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路, 诱导 CPP 大鼠海马神经炎症的发生, 采用特异性 TLR4 抑制剂可以减轻 MA 诱导的神经炎症。

[关键词] 甲基苯丙胺依赖; 条件性位置偏爱; 海马; TLR4/MyD88/NF- κ 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)02-0007-07

Effect of TLR4/MyD88/NF- κ B Signal Pathway on the Hippocampus of Methamphetamine-dependent CPP Rats

ZHANG Yuan¹⁾, ZHU Tingna¹⁾, CAO Yuanyuan¹⁾, LIU Pengliang²⁾, WANG Yihang²⁾,

WU Yamei¹⁾, LI Lihua²⁾, ZHAO Yongna^{1,3)}, HONG Shijun²⁾

(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, China)

[Abstract] **Objective** To study the effect of TLR4/MyD88/NF- κ B signal pathway on the hippocampus of methamphetamine (MA) dependent conditioned place preference (CPP) rats, and inhibition of Toll like receptor 4 (TLR4) by specific inhibitor TAK-242, thereby reducing MA induced hippocampal neuroinflammation. **Methods** We established a model of MA (10 mg/kg, ip, 14 d) dependent CPP in rats. Rats were randomly divided into 4 groups: normal saline group, MA group, TAK-242 group, and MA+TAK-242 group. TAK-242 group and MA+TAK-242 group were intraperitoneally injected with inhibitor TAK-242 (3 mg/kg), and MA+TAK-242 group

[收稿日期] 2022-12-06

[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[2019FE00K(-163)]

[作者简介] 张园(1998~), 女, 云南弥勒人, 在读硕士研究生, 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

was intraperitoneally injected with MA (10 mg/kg) one hour later. Protein and mRNA expression of TLR4, MyD88, TRAF6, I κ B- α , p-I κ B- α , NF- κ B p65, p-NF- κ B p65 in hippocampus of MA dependent CPP rats were tested by Western Blot test and fluorescent quantitative PCR, respectively. **Results** Compared with normal saline group, the expression of protein and mRNA of TLR4, MyD88, TRAF6, NF- κ Bp65 in MA group increased ($P < 0.001$ or $P < 0.01$). The protein of I κ B- α and mRNA expression of lactamase decreased ($P < 0.01$), the expression of p-I κ B- α and p-NF- κ Bp65 increased ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). Compared with MA group, the protein and mRNA expression of TLR4, MyD88, TRAF6, NF- κ Bp65 in MA+TAK-242 group decreased ($P < 0.001$, $P < 0.01$ or $P < 0.05$). The expression of I κ B- α protein and mRNA was increased ($P < 0.01$), the expression of p-I κ B- α and p-NF- κ Bp65 decreased ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). **Conclusions** MA dependency can be achieved by activating TLR4/MyD88/NF- κ B signal pathway, which can induce neuroinflammation on the hippocampus of methamphetamine-dependent CPP rats. The use of specific TLR4 inhibitors can attenuate MA induced neuroinflammation.

[**Key words**] Methamphetamine dependence; Conditional place preference; Hippocampus; TLR4/MyD88/NF- κ B signal transduction pathway

甲基苯丙胺(methamphetamine, MA), 属于苯丙胺类兴奋剂, 可进入血脑屏障导致大脑的结构和功能的改变^[1], 其滥用诱发大脑多个脑区发生不同程度的神经损伤, 从而诱导中枢神经系统神经毒性的产生^[2]。研究发现^[3]MA 依赖引起的神经毒性损伤海马脑区损伤有重要联系。MA 诱导海马神经毒性的产生与单胺类神经递质释放增加^[4-5]、ROS 和 NOS 的产生、大脑免疫细胞的激活、凋亡与自噬^[6] 和神经炎症^[7] 等有关。Toll 样受体(Toll like receptors, TLR), 能够调控免疫及炎症反应^[8], 主要在小胶质细胞中表达^[9]。TLR4 细胞内信号通路分为髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88) 依赖性和 β 干扰素 TIR 结构域衔接蛋白 (TIR-domain-containing adaptor inducing interferon- β , TRIF) 依赖性通路。在 MyD88 依赖途径中当外界因素触发后, 细胞表面的刺激信号通过 TLR4-MyD88-TRAF6-I κ B-PI κ B-NF- κ B 分子传递到细胞核, 从而调节相关炎症因子的转录^[10]。颅脑外伤可以诱导神经元凋亡和神经炎症, 从而导致严重的神经元损害和行为障碍^[11], 其中 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路的激活是造成中枢神经系统损伤的关键原因。在体外实验中脂多糖损伤的 BV2 小胶质细胞和神经炎症损伤的原代皮层神经元中采用 TLR4 抑制剂 TAK-242 所产生的抗神经炎症作用主要是与 TLR4 介导的 MyD88/NF- κ B 信号通路的调节有关^[12]。Li B 等^[13] 的体外实验表明阻断 TLR4 介导的信号转导, TLR4/MyD88/NF- κ B 和 MAPK 通路的激活便会受到影响, 从而抑制 BV-2 小胶质细胞中脂多糖刺激所产生神经炎症。TLR4/MyD88/

NF- κ B 作为一条经典的炎性通路, 在 MA 诱导的海马神经炎症中具有较大的研究价值。本研究旨在探究研究 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路对甲基苯丙胺 CPP 大鼠海马的影响, 同时采用特异性抑制剂 TAK-242 抑制 TLR4, 在改善 MA 依赖海马神经炎症中的作用, 为药物干预甲基苯丙胺依赖提供新的科学证据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

实验动物: 健康雄性 SD 大鼠 40 只, 选择体重在 180 ~ 200 g, 购于昆明医科大学实验动物学中心 [动物使用许可证编号: SCXK(滇)K2015-002]。

药品试剂: 实验所用甲基苯丙胺, 由云南省公安厅禁毒技术公安部重点实验室合法提供, 纯度在 98% 以上。BestarTMqPCR RT Kit、荧光定量试剂盒 (DBI Bioscience); 引物合成 (擎科生物科技有限公司); TLR4 受体抑制剂 (TAK-242, A3850, Apexbio 公司) MyD88 抗体 (ab2064, Abcam 公司); TRAF6 抗体 (66494, Proteintech 公司); I κ B- α 抗体 (9242, CST 公司); p-I κ B- α 抗体 (2859, CST 公司); NF- κ B p65 抗体 (8142s, CST 公司); p-NF- κ B p65 抗体 (sc-136548, Santa Cruz Biotechnology 公司); TLR4 抗体 (sc-293072, Santa Cruz Biotechnology 公司); β -actin 抗体 (ab6276, 购自美国 Abcam 公司)。

主要仪器: 大鼠 CPP 实验箱 (XR-XT401, 上海欣软信息有限公司); 酶标仪 (Touch 2, 美国

BioTek 公司); 普通 PCR 仪、荧光定量 PCR 仪 (T100TM Thermal Cycler、C1000 Touch TM 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)。

1.2 实验方法

1.2.1 实验动物分组及给药 健康雄性 SD 大鼠 40 只, 随机分配为 4 组, 包括生理盐水组: 腹腔注射(生理盐水(10 mg/kg, qd, 14 d); MA 实验组: 给药 MA(10 mg/kg, ip, qd, 14 d), 大鼠形成 MA 依赖, CPP 模型建模成功; TAK-242 组: 给药 TAK-242(3 mg/kg, ip, qd, 14 d); MA + TAK-242 组: 给药 TAK-242(3 mg/kg, ip, qd, 14 d)后 1 h 给予 MA(10 mg/kg, ip, qd, 14 d)。

1.2.2 条件性位置偏爱模型(CPP) 连续 3 d 将随机分组的大鼠放入实验检测的黑白箱中以适应检测环境, 第 4 天检测每只大鼠的天然偏好时间; 连续 14 d 对大鼠以 10 mg/kg 的 MA 进行腹腔注射给药, 使得大鼠产生依赖, 再进行 CPP 检测。

1.2.3 Western Blot 实验 用 10% 的水合氯醛, 按 0.3 mL/100 g 麻醉后迅速水合氯醛麻醉大鼠, 用 0.9% 的氯化钠注射液对大鼠心脏灌注, 将脑血管中的血液冲洗干净断头, 取出全脑, 分离大鼠海马组织解剖大鼠, 取大鼠海马组织, 匀浆, 测定蛋白浓度。配制 10% 和 12% 的分离胶; 上样、电泳, 转膜、孵育一抗(β -actin antibody Anti-TLR4、Anti-Myd88、Anti-TRAF6、Anti-I κ B- α 、Anti-pI κ B- α 、Anti-NF- κ Bp65、Anti-p-NF- κ Bp65 均按照 1:1000 配制), 放入 4 $^{\circ}$ C 过夜, 1xTBST 漂洗 3 次, 温室孵育二抗(2 h), 再次漂洗, 采用 ECL 显影。Image Pro Plus 图像分析软件分析目的条带与对应内参(β -actin)条带二者平

均光密度比值, 最后进行统计学分析。

1.2.4 荧光定量 PCR 实验 取海马组织 80 mg, 放入 EP 管中, 匀浆, 用酶标仪测定 RNA 浓度; 按照说明书逆转录合成 cDNA; 荧光实时定量 PCR 仪, 经 94 $^{\circ}$ C 5 min 预变性、94 $^{\circ}$ C 变性、58 $^{\circ}$ C 退火、72 $^{\circ}$ C 延伸, 此循环进行 40 次, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因的相对表达量, 荧光定量 PCR 引物序列见表 1。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 19.0 进行数据分析, 数值代表均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 用于统计分析的 Prism 软件 5.0 作图(GraphPad software), 组内给药前后比较采用配对 t 检验; 组间多组比较采用多因素方差分析(Multi-factor analysis of variance), 多重比较方法采用 Tukey-HSD, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 甲基苯丙胺依赖 CPP 大鼠海马中 TLR4、MyD88、TRAF6、I κ B- α 、p-I κ B- α 、NF- κ Bp65、p-NF- κ Bp65 蛋白表达

TLR4 蛋白变化: 图 1A 结果显示与生理盐水组相比, MA 组 TLR4 蛋白表达升高($P < 0.01$); 与 MA 组相比, MA+TAK-242 组 TLR4 的蛋白表达下降($P < 0.01$)。

MyD88 蛋白变化: 图 1B 结果显示与生理盐水组相比, MA 组 MyD88 蛋白表达升高($P < 0.01$); 与 MA 组相比, MA+TAK-242 组 MyD88 蛋白表达下降($P < 0.01$)。

TRAF6 蛋白变化: 图 1C 结果显示与生理盐

表 1 荧光定量 PCR 引物序列

Tab. 1 Fluorescence quantitative PCR primer sequence

基因名称	引物序列信息	温度
TLR4	上游引物: 5'-TGCCTGAGACCAGGAAGCTTG 3'	54 $^{\circ}$ C
	下游引物: 5'-CTTAAGATCTTCAGGGGTTG3'	
Myd88	上游引物: 5'-TGAGAAAAGGTGTCGTCGCA3'	54 $^{\circ}$ C
	下游引物: 5'-GGGTCCAGAACCAGGACTTG'	
TRAF6	上游引物: 5'-GCCCATGCCGTATGAAGAGA 3'	54 $^{\circ}$ C
	下游引物: 5'-CGTGACAGCCAAACACACTG3'	
NF- κ B p65	上游引物: 5'-GAGACCTGGAGCAAGCCATT3'	54 $^{\circ}$ C
	下游引物: 5'-AGTTCGGTTTACTCGGCAG3'	
IKB- α	上游引物: 5'-GAATCCTGACCTGGTCTCGC'	55 $^{\circ}$ C
	下游引物: 5'-CACAGTCATCGTAGGGCAACT3'	
β -actin	上游引物: 5'-AGACAGCCGCATCTTGT-3'	55 $^{\circ}$ C
	下游引物: 5'-CTTGCCGTGGGTAGAGTCAT-3'	

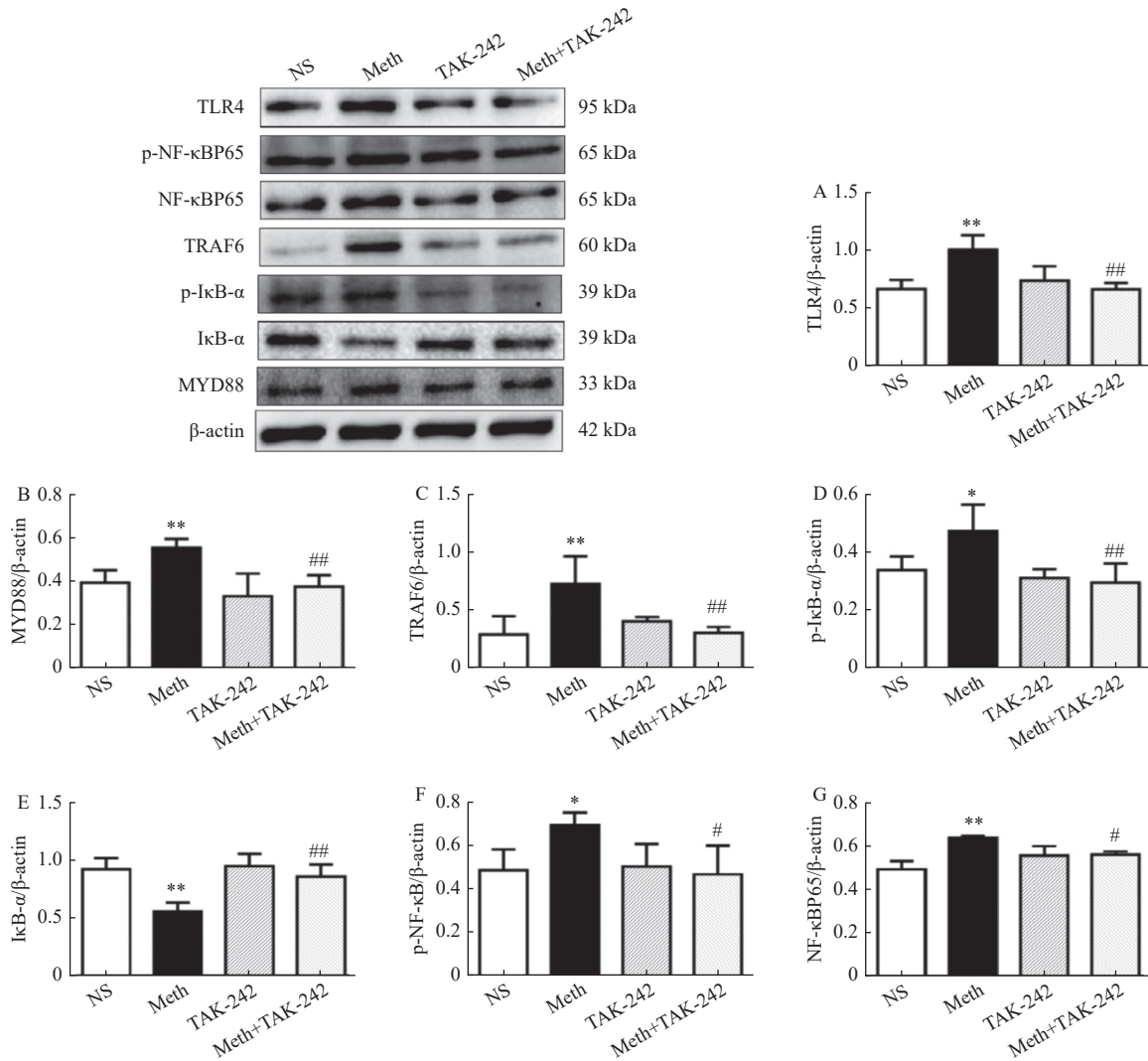


图 1 大鼠海马中 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号转导通路蛋白表达水平变化。

Fig. 1 The protein expression of TLR4/MyD88/NF- κ B signal transduction pathway in the hippocampus of rats

A: 海马中 TLR4 的表达水平; B: 海马中 MyD88 的表达水平; C: 海马中 TRAF6 的表达水平; D: 海马中 p-I κ B- α 的表达水平; E: 海马中 I κ B- α 的表达水平; F: 海马中 p-NF- κ Bp65 的表达水平; G: 海马中 NF- κ Bp65 的表达水平。与对照组进行比较, * P <0.05, ** P <0.01; 与 MA 组比较, # P <0.05, ## P <0.01。

水组相比, MA 组 TRAF6 的蛋白表达升高 (P <0.01); 与 MA 组相比, MA+TAK-242 组 TRAF6 的蛋白表达下降 (P <0.01)。

p-I κ B- α 蛋白变化: 图 1D 结果显示与生理盐水组相比, MA 组 p-I κ B- α 蛋白表达升高 p-I κ B- α 蛋白表达升高 (P <0.05), 与 MA 组相比, MA+TAK-242 组 p-I κ B- α 蛋白表达下降 (P <0.01)。

I κ B- α 蛋白变化: 图 1E 结果显示与生理盐水组相比, MA 组 I κ B- α 蛋白表达降低 (P <0.01); 与 MA 组相比, MA+TAK-242 组 I κ B- α 蛋白表达升高 (P <0.01)。

p-NF- κ Bp65 蛋白变化: 图 1F 结果显示与生理盐水组相比, MA 组 p-NF- κ Bp65 蛋白表达升高 (P <0.05); 与 MA 组相比, MA+TAK-242 组

的 p-NF- κ Bp65 蛋白表达下降 (P <0.05)。

NF- κ Bp65 蛋白变化: 图 1G 结果显示与生理盐水组相比, MA 组 NF- κ Bp65 蛋白表达升高 (P <0.01); 与 MA 组相比, MA+TAK-242 组的 NF- κ Bp65 蛋白表达下降 (P <0.05)。

上述结果提示 MA 可通过 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路诱导 MA 依赖 CPP 大鼠海马发生神经炎症。

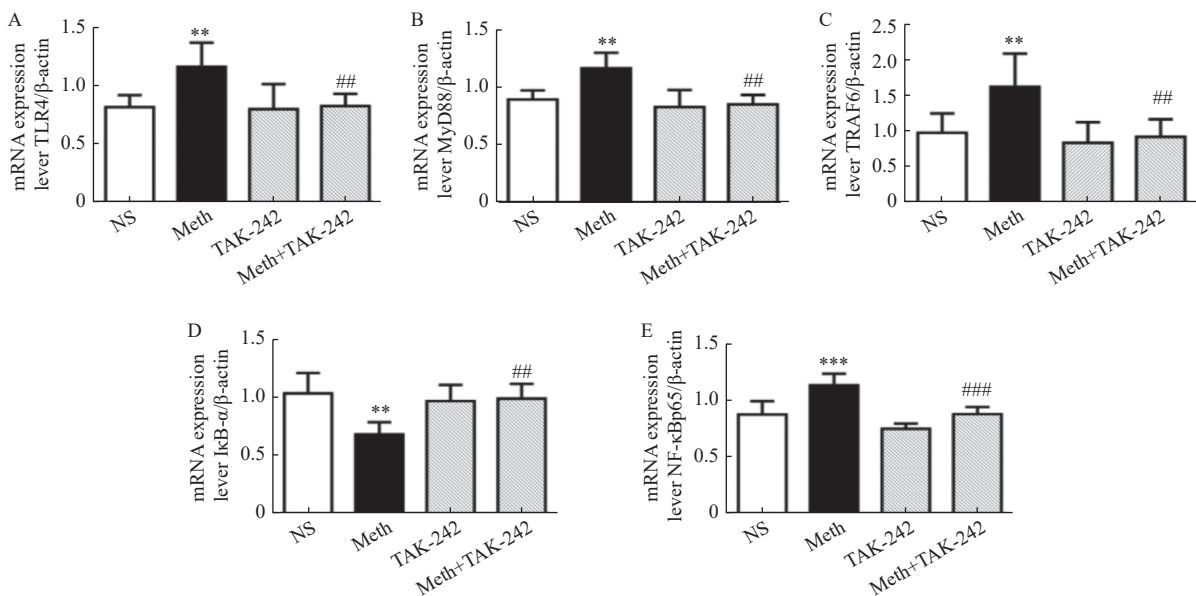
2.2 甲基苯丙胺依赖 CPP 大鼠海马中 TLR4、MyD88、TRAF6、I κ B- α 、NF- κ Bp65 mRNA 表达

TLR4 mRNA 表达变化见表 2 和图 2A, 结果显示与生理盐水组相比, MA 组 TLR4 mRNA 表达上升 (P <0.01); 与 MA 组相比, MA+TAK-242

表2 大鼠海马中 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号转导通路的 mRNA 表达 ($n=6, \bar{x} \pm s$)Tab. 2 The mRNA expression of TLR4/MyD88/NF- κ B signal transduction pathway in the hippocampus of rats ($n=6, \bar{x} \pm s$)

因子	组别			
	生理盐水组	Meth组	TAK-242组	Meth+TAK-242组
TLR4	0.82 ± 0.10	1.16 ± 0.20 **	0.80 ± 0.22	0.83 ± 0.11 ##
MyD88	0.90 ± 0.08	1.17 ± 0.13 **	0.83 ± 0.15	0.86 ± 0.08 ##
TRAF6	0.98 ± 0.27	1.62 ± 0.47 **	0.84 ± 0.29	0.92 ± 0.25 ##
I κ B- α	1.04 ± 0.17	0.69 ± 0.11 **	0.98 ± 0.14	1.00 ± 0.13 ##
NF- κ Bp65	0.88 ± 0.12	1.14 ± 0.10 ***	0.89 ± 0.06	0.92 ± 0.16 ###

与对照组进行比较, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 与MA组进行比较, ## $P < 0.05$, ### $P < 0.001$ 。

图2 大鼠海马中 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号转导通路的 mRNA 表达水平统计结果Fig. 2 The mRNA expression of TLR4/MyD88/NF- κ B signal transduction pathway in the hippocampus

A: 海马中 TLR4 的 mRNA 表达水平; B: 海马中 MyD88 的 mRNA 表达水平; C: 海马中 TRAF6 的 mRNA 表达水平; D: 海马中 I κ B- α 的 mRNA 表达水平; E: 海马中 NF- κ Bp65 的 mRNA 表达水平。与对照组进行比较, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 与 MA 组进行比较, ## $P < 0.05$, ### $P < 0.001$ 。

组 TLR4mRNA 表达下降 ($P < 0.01$)。

MyD88 mRNA 表达变化: 表 2 和图 2B 结果显示与生理盐水组相比, MA 组 MyD88mRNA 表达上升 ($P < 0.01$); 与 M 组相比, MA+TAK-242 组 MyD88mRNA 表达下降 ($P < 0.01$)。

TRAF6 mRNA 表达变化: 表 2 和图 2C 结果显示与生理盐水组相比, MA 组 TRAF6mRNA 表达上升 ($P < 0.01$), 与 MA 组相比, MA+TAK-242 组 TRAF6mRNA 表达下降 ($P < 0.01$)。

I κ B- α mRNA 表达变化: 表 2 和图 2D 结果显示与生理盐水组相比, MA 组 I κ B- α mRNA 表达下降 ($P < 0.01$), 与 MA 组相比, MA+TAK-242 组 I κ B- α mRNA 表达上升 ($P < 0.01$)。

NF- κ Bp65 mRNA 表达变化: 表 2 和图 2E

结果显示与生理盐水组相比, MA 组 NF- κ Bp65 mRNA 表达上升 ($P < 0.001$), 与 MA 组相比, MA+TAK-242 组 NF- κ Bp65 mRNA 表达下降 ($P < 0.001$)。

3 讨论

已有研究表明, MA 依赖诱导海马神经炎症, 造成了神经系统的损害。炎症因子过渡累积就会对机体产生严重的危害, 其中与损害最为严重的海马脑区为例。本研究发现 MA 依赖的 CPP 大鼠激活了海马脑区 TLR4/MYD88/NF- κ B 信号通路, 诱导了海马神经炎症的发生。

TLR4 作为天然免疫识别受体, 通过 Myd88

通路发挥作用^[14, 15]。本研究表明:与对照组相比,MA 组 TLR4、MyD88、TRAF6 蛋白和 mRNA 表达均增加。Xie 等^[16]的研究发现,在 MA 中毒大鼠模型中,MA 可使大鼠纹状体中 TLR4, MyD88, TRAF6 蛋白表达增加;Du 等的研究在 MA 中毒小鼠模型中,MA 也可使中脑和纹状体中 TLR4 蛋白表达增加^[8, 17],上述结果均与本研究结果一致,但是本研究对于海马脑区的检测不仅包含上述因子蛋白水平的变化,还在 mRNA 水平进一步验证了 MA 依赖可通过激活 TLR4/MyD88 信号通路,诱导海马神经炎症发生。Qing-Peng Hu 等^[18]的研究表明,组蛋白乙酰化调节抑制剂(histone deacetylase inhibitor, HDACI)可抑制 TLR4/MYD88 信号通路中 TLR4 的表达,从而抑制小胶质细胞激活和神经元凋亡,这就表明阻断 TLR4 对神经炎症诱导的脑损伤具有潜在的神经保护作用。本研究采用 TLR4 受体抑制剂 TAK-242 预处理,特异性地抑制了海马脑区 TLR4 的表达,减少了 MyD88、TRAF6 的蛋白及 mRNA 的表达。

研究发现多种分子机制可以介导炎症过程,其中最显著的机制是通过核因子 NF- κ B 信号通路^[19],磷酸化的 NF- κ B 抑制因子(inhibitor of NF- κ B, I κ B),使 I κ B 降解,进而激活 NF- κ B,其中 p65 是 NF- κ B 的主要活性亚单位^[20]。本研究采用 Western blot 检测 MA 依赖 CPP 大鼠海马中 p-I κ B- α 、NF- κ Bp65、p-NF- κ Bp65 蛋白表达均增加,I κ B- α 的蛋白表达下降。Liu X 等发现^[21],苦碟子注射液(KDZ)可通过下调 TLR4 依赖性 NF- κ B 信号通路,降低 TRAF6、NF- κ Bp65 和 p-I κ B- α /I κ B- α 的蛋白表达,保护大脑免受缺血性损伤。Long H 等也发现^[22],在大鼠 Tourette 综合征(TS)模型中,TS 大鼠纹状体中 I κ B- α 蛋白表达降低,p-I κ B- α 蛋白表达升高,结果均与本研究一致。不同的是本研究采用特异性 TLR4 拮抗剂 TAK-242 预处理后,p-I κ B- α 、NF- κ Bp65、p-NF- κ Bp65 蛋白表达降低,I κ B- α 蛋白表达增加。此外,本研究发现 I κ B- α mRNA 表达降低、NF- κ Bp65 mRNA 表达增加,结果与蛋白水平一致。采用 TLR4 受体抑制剂(TAK-242)预处理,特异性地抑制了海马脑区 TLR4 的表达,减少了的 NF- κ B 通路关键蛋白及 mRNA 的表达,从而减轻 MA 依赖大鼠海马脑区的神经炎症。

综上所述,TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路参与了 MA 依赖大鼠 CPP 效应的形成,该信号通路

的激活可以诱导 MA 依赖大鼠海马神经炎症的发生。采用特异性的 TLR4 抑制剂可以改变 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路相关的因子的表达,减轻 MA 依赖的海马神经炎症。

[参考文献]

- [1] 石晶晶,吴宁,李锦. 苯丙胺类兴奋剂成瘾的治疗药物研究现状[J]. *中国药物依赖性杂志*, 2016, 25(2): 145-150.
- [2] Veschsanit N, Yang J L, Ngampramuan S, et al. Melatonin reverts methamphetamine-induced learning and memory impairments and hippocampal alterations in mice[J]. *Life Sciences*, 2021, 7(3): 265-274.
- [3] Zhang S, Jin Y, Liu X, et al. Methamphetamine modulates glutamatergic synaptic transmission in rat primary cultured hippocampal neurons[J]. *Brain Research*, 2014, 40(2): 1-11.
- [4] 张莉,布胡丽倩木·伊买尔江,马瑞佳,等. 1-(2-氯)苯基-9-丁基- β -咪唑对小鼠的神经毒性作用[J]. *中国医院药学杂志*, 2022, 42(9): 879-883.
- [5] 魏姗姗. 虫草素对谷氨酸诱导的兴奋性神经毒性的保护作用及机制研究[J]. *江西科技师范大学学报*, 2020, 25(2): 1-52.
- [6] 杨根梦,曾晓锋,张冬先,等. Nupr1/ERS/NLRP3 炎症性小体在甲基苯丙胺诱导的神经毒性中的作用[J]. *中国药理学通报*, 2020, 36(3): 297-300.
- [7] Shaerzadeh F, Streit W J, Heysieattalab S, et al. Methamphetamine neurotoxicity, microglia, and neuroinflammation[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2018, 15(1): 341-363.
- [8] Fern á ndez-Arjona M D M, Grondona J M, Fern á ndez-Llebarez P, et al. Microglial activation by microbial neuraminidase through TLR2 and TLR4 receptors[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2019, 16(1): 245-261.
- [9] Azam S, Jakaria M, Kim I S, et al. Regulation of Toll-Like Receptor (TLR) Signaling Pathway by Polyphenols in the Treatment of Age-Linked Neurodegenerative Diseases: Focus on TLR4 Signaling[J]. *Frontiers in Immunology*, 2019, 10(1): 432-447.
- [10] Chang J, Wang L, Zhang M, et al. Glabridin attenuates atopic dermatitis progression through downregulating the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway[J]. *Genes &*

- Genomics, 2021, 43(8): 847–855.
- [11] Jiang H, Yang X, Wang Y, et al. Vitamin D Protects against Traumatic Brain Injury via Modulating TLR4/MyD88/NF- κ B Pathway-Mediated Microglial Polarization and Neuroinflammation[J]. *Biomed Research International*, 2022, 15(7): 336–339.
- [12] Chen H, Zhong J, Li J, et al. PTP70–2, a novel polysaccharide from *Polygala tenuifolia*, prevents neuroinflammation and protects neurons by suppressing the TLR4-mediated MyD88/NF- κ B signaling pathway[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 194(1): 546–555.
- [13] Li B, Wang M, Chen S, et al. Baicalin Mitigates the Neuroinflammation through the TLR4/MyD88/NF- κ B and MAPK Pathways in LPS-Stimulated BV-2 Microglia[J]. *Biomed Research International*, 2022, 10(1): 326–344.
- [14] 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- κ B Pathway[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2020, 17(8): 2676.
- [15] Cui Y, Wang Y, Zhao D, et al. Loganin prevents BV-2 microglia cells from A β (1–42)-induced inflammation via regulating TLR4/TRAF6/NF- κ B axis[J]. *Cell Biology International*, 2018, 42(12): 1632–1642.
- [16] 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(2): 802–809.
- [17] Du S H, Qiao D F, Chen C X, et al. Toll-Like Receptor 4 Mediates Methamphetamine-Induced Neuroinflammation through Caspase-11 Signaling Pathway in Astrocytes[J]. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2017, 10(1): 409–421.
- [18] Hu Q P, Mao D A. Histone deacetylase inhibitor SAHA attenuates post-seizure hippocampal microglia TLR4/MYD88 signaling and inhibits TLR4 gene expression via histone acetylation[J]. *BMC Neuroscience*, 2016, 17(1): 22–45.
- [19] 贺春香, 于文静, 杨苗, 等. 黄芩苷通过TREM2/TLR4/NF- κ B信号通路抑制脂多糖/干扰素 γ 诱导的BV2细胞炎症反应[J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(6): 1603–1610.
- [20] 房尚萍, 李海源, 丁磊, 等. 通过调节NF- κ B通路中的I κ B α 抑制乳腺癌的研究进展[J]. *锦州医科大学学报*, 2021, 42(1): 104–128.
- [21] Liu X, Zhang X, Wang F, et al. Improvement in cerebral ischemia-reperfusion injury through the TLR4/NF- κ B pathway after Kudiezi injection in rats[J]. *Life Sciences*, 2017, 191(1): 132–140.
- [22] Long H, Ruan J, Zhang M, et al. Rhynchophylline Attenuates Tourette Syndrome via BDNF/NF- κ B Pathway In Vivo and In Vitro[J]. *Neurotoxicity Research*, 2019, 36(4): 756–763.