

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.22.004

SOCS1 在氯胺酮减轻小胶质细胞活化中的机制研究*

雷凤萍¹ 胡斌² 王晨³ 郭琪² 胡渤⁴ 高淑兰^{1Δ}

(1 西安航天总医院药剂科 陕西 西安 710100; 2 西安市第四医院药剂科 陕西 西安 710004;

3 第四军医大学唐都医院药剂科 陕西 西安 710038; 4 广州军区广州总医院麻醉科 广东 广州 510010)

摘要 目的:探讨麻醉药氯胺酮(Ketamine, KET)对暴露于脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)中的小胶质细胞活化水平的影响,并观察细胞因子信号转导抑制因子 1(Suppressor of Cytokine Signaling 1, SOCS1)在其中的作用。**方法:**本研究选用 N9 小胶质细胞系,将其暴露于浓度为 10 ng/mL 的 LPS 中,模拟炎症反应,同时给与浓度为 1 mM 的 KET,采用 Western blot、酶联免疫吸附检测(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA)小 RNA 干扰和免疫细胞染色等方法,观察 KET 对暴露于 LPS 中的小胶质细胞活化水平的影响,及 SOCS1 分子在其中的作用。**结果:**将细胞分为 3 组,分别为正常培养的 Control 组、LPS 组和 KET+LPS 组,研究发现,将 N9 小胶质细胞暴露于含 10 ng/mL 的细胞培养基中 24 h 后,细胞诱导型一氧化氮合酶(Inducible Nitric Oxide Synthase, iNOS)表达和培养基肿瘤坏死因子 α (Tumor Necrosis Factor α , TNF- α)含量显著增加($P<0.05$),而 KET 可显著降低 iNOS 蛋白表达和培养基 TNF- α 含量($P<0.05$)。随后,将细胞分为 5 组,分别为 Control 组、LPS 组、KET+LPS 组、SOCS1-siRNA+KET+LPS 组和乱序 siRNA(SC-siRNA)+KET+LPS 组,我们发现,LPS 可显著增加小胶质细胞 TNF- α 和白细胞介素 1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)的释放、增加 SOCS1 和核因子 κ B(Nuclear Factor κ B, NF- κ B)表达($P<0.05$),而 KET 可显著逆转 LPS 对炎症因子释放和 NF- κ B 表达的影响,并进一步增加 SOCS1 表达($P<0.05$),而 SOCS1-siRNA 显著逆转了 KET 的上述作用($P<0.05$),SC-siRNA 未对 KET 产生的上述作用造成显著影响($P>0.05$)。**结论:**KET 可降低 LPS 对小胶质细胞的活化作用,上述作用可能通过 SOCS1 分子介导。

关键词:氯胺酮;炎症;脂多糖;小胶质细胞;细胞因子信号转导抑制因子 1

中图分类号:R-33;Q593.2;Q813 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2018)22-4219-05

Role of SOCS1 in Ketamine-Induced Inhibition of Microglial Activation*

LEI Feng-ping¹, HU Bir², WANG Chen³, GUO Qi², HU Bo⁴, GAO Shu-lan^{1Δ}

(1 Department of Pharmacology, Xi'an Aerospace General Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710100, China;

2 Department of Pharmacology, Xi'an No.4 Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710004, China;

3 Department of Pharmacology, Tangdu Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710038, China;

4 Department of Anesthesiology, Xi'an Aerospace General Hospital, Guangzhou, Guangdong, 510010, China)

ABSTRACT Objective: To explore ketamine (KET)-induced effects on the microglial activation caused by lipopolysaccharide (LPS), and to investigate the role of Suppressor of Cytokine Signaling 1 (SOCS1) in the process. **Methods:** We took N9 microglial cells, and the cells were exposed to the medium containing LPS of 10 ng/mL to mimic inflammation, meanwhile, 1mM of KET was added into the medium. After the treatments of 24 h, western blot, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), siRNA interfering and immunocytochemistry were taken to assess the activation of microglia and the role of SOCS1 in the process. **Results:** The cells were divided into three groups, including control group, LPS group and KET+LPS group, after the treatments, we found that LPS increased the inducible nitric oxide synthase (iNOS) protein expression and Tumor Necrosis Factor α (TNF- α) concentration in the medium ($P<0.05$), and KET reduced the iNOS expression and TNF- α concentration significantly ($P<0.05$). Then, the cells were divided into five groups, including control group, LPS group, KET+LPS group, SOCS1-siRNA+KET+LPS group and SC-siRNA+KET+LPS group, after 24-h treatments, we found that LPS increased TNF- α and Interleukin-1 β (IL-1 β) releases and the protein expressions of SOCS1 and nuclear factor- κ B (NF- κ B), and KET significantly reversed the effects induced by LPS, and increased SOCS1 expression ($P<0.05$). However, SOCS1-siRNA, not the SC-siRNA, significantly reversed the KET-induced effects above ($P<0.05$). **Conclusions:** KET can reduce LPS-induced microglial activation, and SOCS1 protein may mediate the process.

Key words: Ketamine; Inflammation; Lipopolysaccharide; Microglia; Suppressor of cytokine signaling 1

Chinese Library Classification(CLC): R-33; Q593.2; Q813 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)22-4219-05

* 基金项目:广东省医学科研基金项目(A2017526)

作者简介:雷凤萍,主管药师,主要从事神经炎症相关研究,电话:13572191833, E-mail: lfpingvip@163.com

Δ 通讯作者:高淑兰,副主任药师, E-mail: 1528318732@qq.com

(收稿日期:2018-03-08 接受日期:2018-03-31)

前言

炎症反应是中枢神经系统 (Central Nervous System, CNS) 疾病发生发展的重要环节之一,而小胶质细胞的过度活化可通过释放促炎症因子,加剧 CNS 的炎症反应^[1-3],对受损神经组织造成继发性损伤,因此,抑制小胶质细胞的过度活化,被认为是抑制 CNS 炎症反应相关疾病的有效措施^[4-6]。氯胺酮(Ketamine, KET)是一种临床常用的全身麻醉药,主要用于短小手术和小儿手术的麻醉^[7-9],最近多项研究显示,KET 具有可降低小胶质细胞活化的作用,但其机制尚不清楚^[10-13]。有学者研究发现,细胞因子信号转导抑制因子 1(Suppressor of Cytokine Signaling 1, SOCS1)参与抑制了小胶质细胞的活化^[14-16],而 SOCS1 是否介导了 KET 对小胶质细胞活化水平的影响尚未见报道。在本研究中,我们通过使用促炎症物质脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS) 刺激 N9 小胶质细胞,模拟炎症反应,观察是否 SOCS1 参与了 KET 对小胶质细胞活化水平的影响。

1 材料与方法

1.1 实验细胞和试剂

本实验所使用的 N9 小胶质细胞获赠于第四军医大学, LPS、IMDM 细胞培养基和胎牛血清购自 Sigma-Aldrich 公司(美国)。兔抗小鼠 iNOS、SOCS1、NF- κ B 和 GAPDH 一抗,购自 Abcam 公司(英国),Cy3 标记的山羊抗兔二抗购自北京世纪康为生物公司。TNF- α 和 IL-1 β 炎症因子检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所。培养细胞所用的培养板和培养瓶购自康宁公司(美国)。青链霉素混合溶液和胰蛋白酶购自北京索莱宝公司。SOCS1-siRNA 和乱序 siRNA 购自上海吉玛生物公司。

1.2 细胞培养及分组处理

N9 小胶质细胞培养于 IMDM 培养基中,培养基含 5% 的胎牛血清和 1% 的青链霉素混合溶液,培养环境 37℃,每隔 2-3 天更换培养基一次,当细胞密度达到培养瓶底面积 90% 以上时进行传代。为研究 KET 对小胶质细胞活化水平的影响,将细胞分为 3 组,分别为正常培养的对照组 (Control)、10 ng/mL 的 LPS 处理组和 1 mM 的 KET 和 10 ng/mL 的 LPS 处理组 (KET+LPS),37℃ 孵育 24 h 后,采用 Western blot 和 ELISA 检测细胞 iNOS 蛋白表达和 TNF- α 释放量。随后,将细胞分为 5 组,分别为 Control 组、LPS 组、KET+LPS 组、SOCS1-siRNA+KET+LPS 组和 SC-siRNA+KET+LPS 组,37℃ 孵育 24 h 后,采用 ELISA 法检测细胞炎症因子释放,采用 western blot 和免疫细胞化学法检测 SOCS1 和 NF- κ B 蛋白表达。

1.3 Western blot

将细胞接种于 6 孔细胞培养板,密度为 2×10^6 个/孔,各组细胞处理完毕后,分别使用适量的 RIPA 细胞裂解液和蛋白酶抑制剂加入 6 孔细胞培养板,采用 BCA 法进行蛋白定量检测,使用 SDS-PAGE 凝胶电泳分离相应蛋白。随后,将相应蛋白转移至 NC 膜上,再采用 5% 的脱脂奶粉封闭非特异性抗原,在室温中暴露 1 h,随后,分别使用磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS) 将相应兔抗小鼠一抗稀释至相应倍数(iNOS, 1:500; SOCS1, 1:500; NF- κ B, 1:200; GAPDH, 1:500),使用上述一抗稀释液接触贴膜,4℃ 过夜。随后,将荧光二抗加入有

贴膜的培养皿中,常温避光孵育 30 min,然后使用 PBS 液漂洗贴膜 3 次,每次 15 min。最后上机清洗贴膜,并扫描相应条带灰度,使用 GAPDH 作为内参。

1.4 ELISA 检测细胞因子浓度

将细胞接种于 96 孔细胞培养板,处理完毕后,提取各孔细胞培养上清液,4℃ 低温离心 30 min,离心机转速为 10000 rpm,随后提取细胞培养上清液,根据检测说明书检测各种炎症因子浓度,使用酶标仪,采用比色法检测炎症因子浓度。

1.5 RNA 干扰

将细胞接种于 6 孔细胞培养板,24 h 后,用含 90 pmol/L 的 SOCS1-siRNA 或 SC-siRNA 加入培养板中,2 mL/孔,37℃ 孵育 8 h 后,再使用正常培养基培养 8 h,随后,使用 western blot 检测 siRNA 干扰效果。

1.6 免疫细胞化学

将细胞接种于共聚焦专用培养皿, 1×10^5 个/孔,24 h 后,接受处理,处理完毕后,使用 4% 多聚甲醛固定,30 min 后,PBS 清洗 3 次,每次 5 min,每孔随后加入 200 μ L 的 SOCS1 一抗,4℃ 过夜,随后 PBS 清洗 3 次,每孔加入 Cy3 标记的山羊抗兔二抗,常温避光孵育 1 h,每孔再加入 150 μ L 的 DAPI 染色液,PBS 清洗 3 次后,使用共聚焦显微镜 (Olympus, 日本) 观察 SOCS1 蛋白表达。

1.7 数据统计

所有数据采用 SPSS17.0 进行数据处理,各数据采用均数标准差 (Means SD) 表示,组间差异性采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 进行比较, $P < 0.05$ 被认为统计学差异。

2 结果

2.1 氯胺酮抑制了暴露于脂多糖中的小胶质细胞 iNOS 蛋白表达和 TNF- α 释放

诱导型一氧化氮合酶(iNOS)表达和促炎因子 TNF- α 释放量,与小胶质细胞活化水平呈正相关。在本研究中,我们将小胶质细胞分为 3 组,分别为对照(Control)组、脂多糖暴露组(LPS)和氯胺酮混合 LPS 暴露组(KET+LPS),孵育 24 h 后,结果显示,与 Control 组相比,10 ng/mL 的 LPS 暴露 24 h 后,LPS 组 iNOS 蛋白表达水平(图 1A)和培养基 TNF- α 释放量(图 1B)显著升高($P < 0.05$);而与 LPS 组相比,使用 1 mM 的 KET 干预,KET+LPS 组的 iNOS 表达水平和 TNF- α 释放量显著降低 ($P < 0.05$),以上结果表明,KET 可降低 LPS 对小胶质细胞的活化水平。

2.2 KET 可增加暴露于 LPS 中的小胶质细胞 SOCS1 蛋白表达水平

Western blot 结果显示(图 2A),与 Control 组相比,本实验所使用的 SOCS1-siRNA 可显著降低细胞 SOCS1 蛋白表达($P < 0.05$),而乱序(SC)-siRNA 未对细胞 SOCS1 蛋白表达水平产生明显影响($P > 0.05$),以上结果提示,SOCS1-siRNA 的干扰效果有效。Western blot(图 2B)和免疫细胞化学(图 2C)结果显示,LPS 暴露,可一定程度增加小胶质细胞 SOCS1 蛋白表达(红色),而 KET 则可显著上调 SOCS1 蛋白表达水平 ($P < 0.05$),SOCS1-siRNA 可显著逆转 KET 对小胶质细胞 SOCS1 蛋白表达的影响 ($P < 0.05$),SC-siRNA 未对细胞 SOCS1 表达产生影响 ($P > 0.05$)。

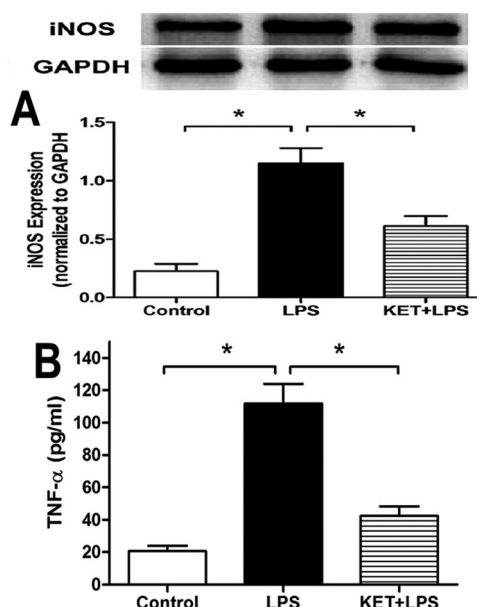


图1 氯胺酮显著降低了暴露于脂多糖中的小胶质细胞 iNOS 蛋白表达和 TNF- α 释放

Fig.1 Ketamine reduced iNOS expression and TNF- α release in N9 microglia exposed to LPS

Note: A: Ketamine reduced iNOS expression; B: Ketamine reduced TNF- α release. *: $P < 0.05$.

2.3 SOCS1-siRNA 逆转了 KET 对暴露于 LPS 中的小胶质细胞 NF- κ B 蛋白表达的影响

NF- κ B 是表达于细胞核内的一种蛋白,其表达程度,与细胞炎症反应水平正相关。在本研究中,LPS 暴露 24 h(图 3),可显著增加小胶质细胞 NF- κ B 蛋白表达水平 ($P < 0.05$),而 KET 可显著降低 NF- κ B 蛋白表达程度($P < 0.05$),SOCS1-siRNA 可显著逆转 KET 对小胶质细胞 NF- κ B 蛋白表达的影响 ($P < 0.05$),SC-siRNA 未对 KET 细胞下调 NF- κ B 表达的作用产生显著影响($P > 0.05$)。

2.4 SOCS1-siRNA 逆转了 KET 对暴露于 LPS 中的小胶质细胞促炎症因子释放的影响

在本研究中,LPS 暴露 24 h 后,可显著增加小胶质细胞培养基内 TNF- α (图 4A)和 IL-1 β (图 4B)的浓度($P < 0.05$),而 1 mM 的 KET 可显著降低培养基内 TNF- α 和 IL-1 β 的浓度($P < 0.05$),SOCS1-siRNA 可显著逆转 KET 对小胶质细胞 TNF- α 和 IL-1 β 释放的影响 ($P < 0.05$),而 SC-siRNA 未对 KET 下调 TNF- α 和 IL-1 β 释放的作用产生显著影响($P > 0.05$)。

3 讨论

在本研究中,我们发现将 N9 小胶质细胞暴露于 10 ng/L 的 LPS 中 24 h 后,细胞 iNOS 和 NF- κ B 蛋白表达水平显著升

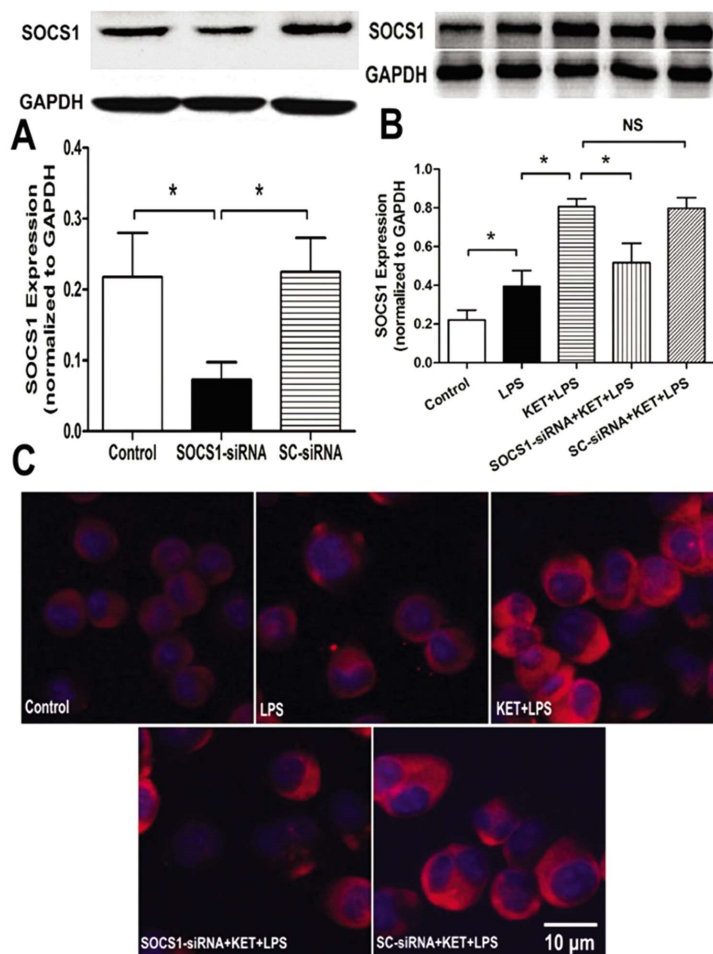


图2 SOCS1-siRNA 逆转了氯胺酮对暴露于脂多糖中的小胶质细胞 SOCS1 蛋白表达的影响

Fig. 2 SOCS1-siRNA reversed ketamine-induced effects on SOCS1 protein expression in N9 microglia exposed to LPS.

Note: A: SOCS1-siRNA down-regulated SOCS1 protein expression; B: Western blot indicated that SOCS1-siRNA reversed ketamine-induced effects on SOCS1 protein expression; C: Immunocytochemistry indicated that SOCS1-siRNA reversed ketamine-induced effects on SOCS1 protein expression.

*: $P < 0.05$, NS: no significance.

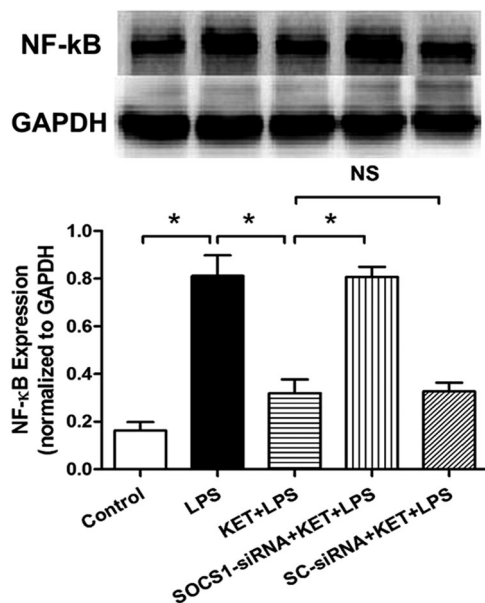


图3 SOCS1-siRNA 逆转了氯胺酮对暴露于脂多糖中的小胶质细胞 NF-κB 蛋白表达的影响

Fig. 3 SOCS1-siRNA reversed ketamine-induced effects on NF-κB protein expression in N9 microglia exposed to LPS.

Note: *: $P < 0.05$, NS: no significance.

高、促炎症因子 TNF-α 和 IL-1β 释放量明显增加, 1 mM 的 KET 可显著降低小胶质细胞暴露于 LPS 产生的上述作用, 而 SOCS1-siRNA 可显著逆转 KET 对 iNOS 和 NF-κB 蛋白表达和促炎症因子释放产生的影响, SC-siRNA 未对 KET 的上述作用造成显著干扰。以上结果提示, KET 可能通过 SOCS1 介导, 抑制了 LPS 引起的小胶质细胞的活化。

小胶质细胞是 CNS 内最为常见的胶质细胞之一, 主要参与 CNS 内的炎症反应。在脑缺血损伤、脑外伤和神经退行性疾病中, 小胶质细胞可以被活化, 活化后的小胶质细胞可分泌大量促炎症细胞因子, 如 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 等, 从而进一步加重 CNS 中神经元细胞的损伤, 继而引起神经功能障碍^[17-19]。因此, 抑制小胶质细胞的活化水平, 可通过抑制 CNS 炎症反应, 减轻神经元炎症损伤, 改善神经功能。LPS 是革兰氏阴性细菌分泌的一种多糖类生物活性物质, 主要存在于细菌的细胞膜和细胞壁中, 当细菌死亡或受到破坏后, LPS 可从细菌中释放出来, 因此, LPS 也被称之为内毒素。LPS 可被广泛应用于基础研究中, 用于刺激细胞或者动物, 促使其发生炎症反应。在本研究中, 我们使用了 LPS 刺激小胶质细胞, 模拟小胶质细胞激活状态和 CNS 炎症反应。最新研究显示, 激活后的小胶质细胞存在两种激活状态, 分别为促进炎症的 M1 活化状态, 也称经典激活状态(Classic Activated State), 该状态的小胶质细胞可分泌大量促炎症因子, 如 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 等, 对 CNS 系统的炎症反应有增加或加重作用; M2 状态是小胶质细胞的另一种激活状态, 又称选择性激活状态(Selective Activated State), 该状态的小胶质细胞分泌的促炎症因子相对较少, 而分泌的抑炎症因子和神经营养因子相对较多, 如 IL-10、胶质细胞源性神经营养因子(GDNF, Glia-derived Neurotrophic Factor)和脑源性神经营养因子(Brain-derived Neurotrophic Factor, BDNF), 因此, M2 状态的小胶质细胞对神经炎症有抑制作用, 并具有一定神经营养

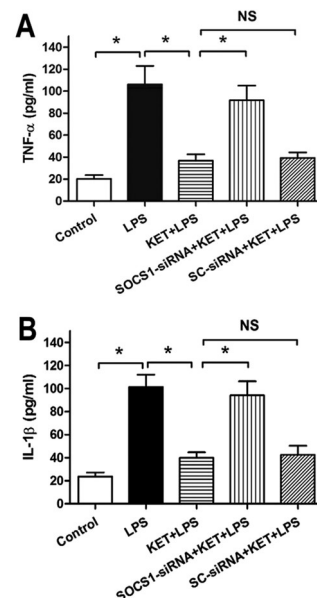


图4 SOCS1-siRNA 逆转了氯胺酮对暴露于脂多糖中的小胶质细胞 TNF-α 和 IL-1β 释放的影响

Fig. 4 SOCS1-siRNA reversed ketamine-induced effects on TNF-α and IL-1β releases from N9 microglia exposed to LPS.

Note: A: SOCS1-siRNA reversed ketamine-induced inhibition of TNF-α release; B: SOCS1-siRNA reversed ketamine-induced inhibition of IL-1β release. *: $P < 0.05$, NS: no significance.

和促神经损伤修复功能, 因此, 促进小胶质细胞由 M1 状态向 M2 状态转化, 是降低 CNS 炎症损伤的有效方法之一。氯胺酮(Ketamine, KET)是最为常见的静脉全身麻醉药之一, 临床上广泛应用于各种短小手术和小儿手术的麻醉, 其麻醉机制是通过阻断神经元 N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl-D-aspartic acid receptor, NMDA)受体产生全身麻醉作用^[20-22], 然而, 由于 KET 的应用可能会引起颅内压增高^[23], 因此, 在神经外科手术中, 较少使用 KET 进行麻醉。新近几项研究显示, KET 具有神经保护作用, 其机制可能与抑制小胶质细胞活化有关, 但其详细作用机制, 目前尚不明确。SOCS 家族是一种表达于小胶质细胞和外周巨噬细胞的一种蛋白受体家族, 主要包括 SOCS1-7 和细胞因子诱导型 SH2 蛋白(Cytokine-Inducible SH2 protein, CIS), 其中 SOCS1 分子在调控小胶质细胞活化状态中起到了更为重要的作用^[24,25]。因此, 在本研究中, 我们发现 LPS 一定程度上增加了 SOCS1 蛋白表达, 说明起到抑炎作用的 SOCS1 在 LPS 刺激下, 一定程度表达水平增加, 而 KET 暴露后, 可进一步增加了 SOCS1 表达, 进一步促进了小胶质细胞抑炎作用的产生, 使用了 SOCS1-siRNA 干预了小胶质细胞 SOCS1 蛋白分子表达后, 可显著逆转 KET 对小胶质细胞促炎症因子释放的抑制作用, 并同时逆转了 KET 对 NF-κB 和 iNOS 表达的下调作用, 表明 SOCS1 蛋白可能介导了 KET 在小胶质细胞中产生的抑炎作用。由于 NF-κB 是一种表达于细胞核上的蛋白因子, 其表达程度越高, 提示细胞炎症反应程度越剧烈, 因此, KET 降低小胶质细胞 NF-κB 表达, 也反映了 KET 具有明显抑制小胶质细胞炎症反应的作用。在本研究的观察指标中, 我们检测了 iNOS 蛋白表达水平和促炎症因子 TNF-α 和 IL-1β 在细胞培养基中的浓度, 我们发现 KET 可降低受 LPS 刺激的小胶质细胞 iNOS

蛋白表达和 TNF- α 、IL-1 β 的释放,由于 iNOS、TNF- α 和 IL-1 β 是小胶质细胞 M1 激活状态的生物标志物(Biomarkers),因此,我们推测 KET 很可能通过促使小胶质细胞的激活状态从 M1 向 M2 状态转化,以达到抑制 CNS 炎症反应的作用。当然,上述推测还需要更多的实验研究,进一步证实。

TOLR3 受体是表达于 CNS 的小胶质细胞和外周组织巨噬细胞的一种炎症相关受体,其表达程度被认为与细胞炎症反应程度呈正相关。有报道显示,KET 可通过抑制小胶质细胞的 TOLR3 受体降低大鼠神经病理性痛模型中的小胶质细胞活化^[26],由于神经炎症是产生神经病理性痛的重要机制之一,因此,KET 减轻神经病理性疼痛的机制很可能与抑制小胶质细胞 TOLR3 受体表达,并降低小胶质细胞活化水平有关;另一项研究显示,KET 还可通过抑制 ERK1/2 的磷酸化减轻 LPS 引起的小胶质细胞的活化^[27]。因此,KET 抑制小胶质细胞活化的详细机制,尚需进一步探讨。综上,我们的研究结果提示,KET 未来可不止应用于全身麻醉,还可能应用于治疗小胶质细胞活化相关的 CNS 疾病,尤其对于一些小胶质细胞活化引起的炎症相关 CNS 疾病,KET 可通过抑制细胞活化,起到抑制炎症、缓解疾病的目的,目前已知的 CNS 疾病有帕金森病(Parkinson's Disease, PD)、阿尔茨海默病(Alzheimer's Disease, AD)、脑外伤和脑中风等,如 KET 被应用于上述疾病的治疗,这将大大扩展 KET 的应用范围。然而,我们的研究仍有一些不足:首先,本研究使用的是 N9 小胶质细胞系,本研究的实验结果还需在原代培养小胶质细胞和动物实验中进一步验证;其次,本研究的结果,在临床应用中是否有效,仍然需要临床试验加以证实。

总之,在本研究中,我们发现 KET 可显著抑制 LPS 引起的小胶质细胞活化,SOCS1 分子可能介导了上述过程。

参考文献(References)

- [1] Konishi H, Kobayashi M, Kunisawa T, et al. Siglec-H is a microglia-specific marker that discriminates microglia from CNS-associated macrophages and CNS-infiltrating monocytes [J]. *Glia*, 2017, 65(12): 1927-1943
- [2] Kim J, Jeong YH, Lee EJ, et al. Suppression of neuroinflammation by matrix metalloproteinase-8 inhibitor in aged normal and LRRK2 G2019S Parkinson's disease model mice challenged with lipopolysaccharide[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 493(2): 879-886
- [3] Zhang M, Wu X, Xu Y, et al. The cystathionine β -synthase/hydrogen sulfide pathway contributes to microglia-mediated neuroinflammation following cerebral ischemia [J]. *Brain Behav Immun*, 2017, 66: 332-346
- [4] Rehker J, Rodhe J, Nesbitt RR, et al. Caspase-8, association with Alzheimer's Disease and functional analysis of rare variants [J]. *PLoS One*, 2017, 12(10): e0185777
- [5] Caglayan B, Caglayan AB, Beker MC, et al. Evidence that activation of P2X7R does not exacerbate neuronal death after optic nerve transection and focal cerebral ischemia in mice [J]. *Exp Neurol*, 2017, 296: 23-31
- [6] Du C, Wang Y, Zhang F, et al. Synaptotagmin-11 inhibits cytokine secretion and phagocytosis in microglia [J]. *Glia*, 2017, 65 (10): 1656-1667
- [7] 殷俊,吴世民.七氟醚麻醉诱导与氯胺酮麻醉诱导在患儿全身麻醉中的应用研究[J].*中国当代医药*, 2017, 24(09): 78-81
- [8] Yin Jun, Wu Shi-min. Research of applications of induction of anesthesia with sevoflurane and ketamine anesthesia induction for children with systemic[J]. *China Modern Medicine*, 2017, 24(09): 78-81
- [9] 刘丽.氯胺酮联合丙泊酚在小儿麻醉中的疗效观察[J].*中国当代医药*, 2012, 19(02): 82-83
- [10] Liu Li. Curative effects of ketamine joint propofol in pediatric anesthesia[J]. *China Modern Medicine*, 2012, 19(02): 82-83
- [11] Pestieau SR, Finkel JC, Junqueira MM, et al. Prolonged perioperative infusion of low-dose ketamine does not alter opioid use after pediatric scoliosis surgery[J]. *Paediatr Anaesth*, 2014, 24(6): 582-590
- [12] Hou Y, Zhang H, Xie G, et al. Neuronal injury, but not microglia activation, is associated with ketamine-induced experimental schizophrenic model in mice [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2013, 45: 107-116
- [13] Tanaka T, Kai S, Matsuyama T, et al. General anesthetics inhibit LPS-induced IL-1 β expression in glial cells [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (12): e82930
- [14] Walker SM, Westin BD, Deumens R, et al. Effects of intrathecal ketamine in the neonatal rat: evaluation of apoptosis and long-term functional outcome[J]. *Anesthesiology*, 2010, 113(1): 147-159
- [15] Nakanishi M, Mori T, Nishikawa K, et al. The effects of general anesthetics on P2X7 and P2Y receptors in a rat microglial cell line [J]. *Anesth Analg*, 2007, 104(5): 1136-1144
- [16] Pei Z, Wang S, Li Q. Sevoflurane suppresses microglial M2 polarization[J]. *Neurosci Lett*, 2017, 655: 160-165
- [17] Zhang S, Gao L, Liu X, et al. Resveratrol Attenuates Microglial Activation via SIRT1-SOCS1 Pathway[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, 2017: 8791832
- [18] Cai H, Liang Q, Ge G. Gypenoside Attenuates β Amyloid-Induced Inflammation in N9 Microglial Cells via SOCS1 Signaling[J]. *Neural Plast*, 2016, 2016: 6362707
- [19] 贾济,朱萧玲,左志义,等.CBR2 激活与小胶质细胞的活化和损伤的关系[J].*现代生物医学进展*, 2011, 11(4): 601-604
- [20] Jia Ji, Zhu Xiao-ling, Zuo Zhi-yi, et al. The relationship between CBR2 Activation and Injury Induced by Inflammation [J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2011, 11(4): 601-604
- [21] 刘洪翠,郑敏华,韩华,等.小胶质细胞在帕金森病病理进展中的作用[J].*现代生物医学进展*, 2011, 11(11): 2194-2196
- [22] Liu Hong-cui, Zheng Min-hua, Han Hua, et al. The Role of Microglia in the Progress of Parkinson's Disease [J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2011, 11(11): 2194-2196
- [23] Shen Z, Li X, Bao X, et al. Microglia-targeted stem cell therapies for Alzheimer disease: A preclinical data review [J]. *J Neurosci Res*, 2017, 95(12): 2420-2429
- [24] Sakamoto K, Kuroki T, Sagawa T, et al. Opioid receptor activation is involved in neuroprotection induced by TRPV1 channel activation against excitotoxicity in the rat retina[J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 812: 57-63
- [25] Glasgow NG, Povysheva NV, Azofeifa AM, et al. Memantine and Ketamine Differentially Alter NMDA Receptor Desensitization [J]. *J Neurosci*, 2017, 37(40): 9686-9704

[Epub ahead of print]

- [3] Kai Y, Li Y, Sun T, et al. A medial prefrontal cortex-nucleus accumbens corticotropin-releasing factor circuitry for neuropathic pain-increased susceptibility to opioid reward[J]. *Transl Psychiatry*, 2018, 8(1): 100
- [4] Kenny PJ, Hoyer D, Koob GF. Animal Models of Addiction and Neuropsychiatric Disorders and Their Role in Drug Discovery: Honoring the Legacy of Athina Markou [J]. *Biol Psychiatry*, 2018, 83(11): 940-946
- [5] Panlilio LV, Goldberg SR. Self-administration of drugs in animals and humans as a model and an investigative tool[J]. *Addiction*, 2007, 102(12): 1863-1870
- [6] Caine SB, Negus SS, Mello NK. Method for training operant responding and evaluating cocaine self-administration behavior in mutant mice[J]. *Psychopharmacology*, 1999, 147(1): 22-24
- [7] Javadi-Paydar M, Harvey EL, Grant Y, et al. Binge-like acquisition of alpha-pyrrolidinopentiophenone (alpha-PVP) self-administration in female rats[J]. *Psychopharmacology*, 2018[Epub ahead of print]
- [8] Cadet JL, Brannock C, Jayanthi S, et al. Transcriptional and epigenetic substrates of methamphetamine addiction and withdrawal: evidence from a long-access self-administration model in the rat [J]. *Mol Neurobiol*, 2015, 51(2): 696-717
- [9] Richardson NR, Roberts DC. Progressive ratio schedules in drug self-administration studies in rats: a method to evaluate reinforcing efficacy[J]. *J Neurosci Methods*, 1996, 66(1): 1-11
- [10] Strickland JC, Lile JA, Rush CR, et al. Relationship between intranasal cocaine self-administration and subject-rated effects: predictors of cocaine taking on progressive-ratio schedules [J]. *Hum psychopharmacol*, 2014, 29(4): 342-350
- [11] Clemens KJ, Holmes NM. An extended history of drug self-administration results in multiple sources of control over drug seeking behavior [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2017, pii: S0278-5846(17)30418-9
- [12] Caprioli D, Justinova Z, Venniro M, et al. Effect of Novel Allosteric Modulators of Metabotropic Glutamate Receptors on Drug Self-administration and Relapse: A Review of Preclinical Studies and Their Clinical Implications[J]. *Biol psychiatry*, 2017, pii: S0006-3223(17)31937-6
- [13] Weeks JR. Experimental morphine addiction: method for automatic intravenous injections in unrestrained rats [J]. *Science*, 1962, 138(3537): 143-144
- [14] Deneau G, Yanagita T, Seevers MH. Self-administration of psychoactive substances by the monkey [J]. *Psychopharmacologia*, 1969, 16(1): 30-48
- [15] Lacy RT, Strickland JC, Smith MA. Cocaine self-administration in social dyads using custom-built operant conditioning chambers [J]. *J Neurosci Methods*, 2014, 236: 11-18
- [16] Strickland JC, Smith MA. Animal models of social contact and drug self-administration[J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2015, 136: 47-54
- [17] Blegen MB, da Silva ESD, Bock R, et al. Alcohol operant self-administration: Investigating how alcohol-seeking behaviors predict drinking in mice using two operant approaches [J]. *Alcohol*, 2018, 67: 23-36
- [18] Smith MA, Fronk GE, Abel JM, et al. Resistance exercise decreases heroin self-administration and alters gene expression in the nucleus accumbens of heroin-exposed rats [J]. *Psychopharmacology*, 2018, 235(4): 1245-1255
- [19] Pisanu A, Lecca D, Valentini V, et al. Impairment of acquisition of intravenous cocaine self-administration by RNA-interference of dopamine D1-receptors in the nucleus accumbens shell [J]. *Neuropharmacology*, 2015, 89: 398-411
- [20] Caine SB, Koob GF. Effects of mesolimbic dopamine depletion on responding maintained by cocaine and food [J]. *J Exp Anal Behav*, 1994, 61(2): 213-221
- [21] Miller ML, Aarde SM, Moreno AY, et al. Effects of active anti-methamphetamine vaccination on intravenous self-administration in rats[J]. *Drug Alcohol Depend*, 2015, 153: 29-36
- (上接第 4223 页)
- [22] Fernandes A, Li YW. Focused microwave irradiation-assisted immunohistochemistry to study effects of ketamine on phospho-ERK expression in the mouse brain[J]. *Brain Res*, 2017, 1670: 86-95
- [23] Peltoniemi MA, Hagelberg NM, Olkkola KT, et al. Ketamine: A Review of Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics in Anesthesia and Pain Therapy[J]. *Clin Pharmacokinet*, 2016, 55(9): 1059-1077
- [24] Littlefield A, Kohman RA. Differential response to intrahippocampal interleukin-4/interleukin-13 in aged and exercise mice [J]. *Neuroscience*, 2017, 343: 106-114
- [25] Dragone T, Cianciulli A, Calvello R, et al. Resveratrol counteracts lipopolysaccharide-mediated microglial inflammation by modulating a SOCS-1 dependent signaling pathway[J]. *Toxicol In Vitro*, 2014, 28(6): 1126-1135
- [26] Mei XP, Zhou Y, Wang W, et al. Ketamine depresses toll-like receptor 3 signaling in spinal microglia in a rat model of neuropathic pain [J]. *Neurosignals*, 2011, 19(1): 44-53
- [27] Chang Y, Lee JJ, Hsieh CY, et al. Inhibitory effects of ketamine on lipopolysaccharide-induced microglial activation [J]. *Mediators Inflamm*, 2009, 2009: 705379