网络出版时间:2020-4-7 16:47 网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20200403.1821.004.html

低频重复经颅磁刺激对甲基苯丙胺成瘾大鼠复吸行为、记忆功能和海马结构的影响

徐晓津,房茂胜,缪 楹,徐艳芩

摘要 **目的** 研究低频重复经颅磁刺激(rTMS)对甲基苯丙胺(MA)成瘾大鼠复吸行为、记忆功能和海马结构的影响。**方法** 将60只SD大鼠随机分为对照组、模型组、实验组,将模型组和实验组大鼠利用固定比例程序建立MA大鼠自身给药模型,在模型建立后至自然戒断成功过程中,对实验组大鼠进行rTMS治疗7 d,模型组和对照组仅进行假刺激处理,完成后对各组大鼠进行旷野实验和Morris水迷宫实验判断其学习记忆能力;对模型组和实验组大鼠给予条件线索诱导后,观察其是否出现复吸行为;实验结束后处死大鼠取大脑海马组织进行切片,经HE染色、尼氏染色及醋酸双氧铀-枸橼酸铅染色后观察各组海马组织结构变化情况。**结果** 成功制备MA成瘾大鼠模型,并且模型组大鼠的学习记忆功能降低,rTMS治疗后可有效改善MA成瘾大鼠的学习记忆功能降低情况;模型组大鼠自然戒断后给予条件线索会诱导出现复吸行为,而经rTMS治疗后,在条件线索诱导下其有效鼻触碰次数明显减少;MA成瘾大鼠模型海马组织中尼氏小体数目及平均光密度均降低,CA3区神经突触数量减少,前、后膜有融合情况,突触小体数量减少,rTMS治疗后可以一定程度上缓解这种病理改变。**结论** rTMS治疗能够改善MA成瘾大鼠的记忆功能及海马神经元损伤,还能抑制条件线索诱导下MA复吸行为。

关键词 甲基苯丙胺;成瘾;低频重复经颅磁刺激;复吸
中图分类号 R 749;R 749.92;R 745
文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2020)04-0503-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.04.004

甲基苯丙胺(methamphetamine,MA)俗称“冰毒”,是2000年以后我国毒品滥用中最具代表性、最常见且滥用增长速度最快的毒品,其起效迅速,口服后数分钟即可表现出明显的中枢和外周反应,且半衰期较长[1-2]。有研究[3]报道称小剂量使用MA可促进长期智力发展,而长时间大量使用MA会严重损伤机体,降低认知功能,严重者会导致死亡。现阶段研究[4]表明氧化应激、神经元凋亡、兴奋性毒性都参与到MA的神经毒性过程中。低频重复经颅磁刺激(repetitive transcranial magnetic stimulation,rTMS)作为一种新发展的神经电生理技术,其在改善抑郁症患者认知功能方面效果得到了肯定,但目前rTMS防治MA戒毒后复吸的相关研究鲜少报道。该研究旨在通过构建MA自身给药模型,给予rTMS治疗,来观察rTMS防治MA复吸的可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物来源 健康雄性SD大鼠60只,体质量200~220 g,购于中国食品药品检定研究院[许可证号:SCXK(京)2017-0005],所有SD大鼠均饲养在中国检验检疫科学研究院屏障环境动物房[SYXK(京)2016-0011],培育室温度20~25 ℃,湿度保持在65%~70%,进行人工光照(12 h/12 h),大鼠全天自由饮水,常规饲料饲养。实验过程中均严格遵循“3R”原则。

1.2 主要试剂与仪器 MA(购自中国药品生物制品鉴定所,批号171212);Mag Pro30型经颅磁刺激仪(丹麦Dantec公司);RB-100A水迷宫测试系统(北京新天地科技有限公司);大鼠自身给药训练笼及相关配件(宁波市俺来科技有限公司)。

1.3 实验动物分组与MA自身给药模型建立 将60只SD大鼠随机分为对照组、模型组、实验组,每组20只。所有大鼠适应性饲养7 d后,用3%戊巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉后同时给予0.3 mg/kg的阿托品镇静;将大鼠固定于手术台上,快速分离出右侧静脉,并剪出“V”字型切口,然后用长度3.5 cm的PE50插管沿切口迅速插入,医用尼龙线固定,并在静脉远心端结扎,在插管的另一端用10 cm长的PE20经皮下组织由背部穿出体外,并用消毒过的堵头封口,手术后每天通过插管给予0.1 ml的肝素钠抗凝,并在术后3 d内给予2×10^5 U的青霉素抗感染,所有大鼠单笼饲养,全天自由饮食。手术完成后恢复7 d左右,对模型组和实验组大鼠进行MA自

2020-01-03 收
基金项目:湖北省卫生和计划生育委员会联合基金项目(编号:WJ2018H1559);武汉市卫生和计划生育委员会科研项目(编号:WX18D32)
作者单位:武汉市精神卫生中心精神科,武汉 430012
作者简介:徐晓津,女,主治医师;
房茂胜,男,博士,主任医师,责任作者,E-mail:XIAMIANPUg@163.com

身给药训练，采用固定比例程序进行训练，每天训练3 h，将大鼠放入训练笼中，亮起笼灯，大鼠在训练笼中的碰触有效鼻触，笼灯熄灭，完成1次有效鼻触可获得1次0.05 mg/kg剂量的MA给药，给药时间过程持续5 s，每次给药后会有20 s不应期，不应期内仅记录有效鼻触次数但不进行给药，结束后亮起笼灯，进入下一个循环。训练时间持续8 d，以连续3 d有效鼻触次数超过50次，且变化幅度低于10%，判定为模型建立成功[5]。

1.4 rTMS治疗方法 将各组大鼠放置在长圆型塑料器具中固定，使大鼠的头颈部皮肤紧贴在内径10 mm、外径60 mm的MC125圆形线圈正中心，调整输出场强在3.7 T，保持刺激强度为1 T，频率为1 Hz，连续刺激25次后间隔2 min继续刺激，一共5个序列，每天1次，对照组和模型组大鼠，仅用线圈紧贴头部，但不给予刺激，共持续治疗7 d，每天均在20:00进行试验。

1.5 行为学试验

1.5.1 旷野实验 采用文献[6]中相关方法，在rTMS治疗后将大鼠放入80 cm×80 cm×40 cm的内空敞箱中，将箱子内壁涂成黑色，且底部用黑线划分为面积相等的25块，记录大鼠穿越地面方块数作为水平活动得分，直立次数则作为垂直得分。测试过程中周围保持安静，且每只大鼠完成试验后，清理平台及气味，避免对后面大鼠的实验造成影响。

1.5.2 水迷宫实验 采用文献[7]中的相关方法，在旷野实验结束后开始进行，RB-400A水迷宫测试装置有棕黑色塑料板制成，水深度为22 cm，将装置分为A区、B区、C区、终点区，在终点区位置有台阶能够让实验动物爬出水面，A、B、C区到终点区均进行训练，每个区域训练3次。训练完成后，记录5 min内实验动物从C区起点处进入终点区所需时间以及进入盲端次数(错误次数)，24 h后复测1次。

1.6 大鼠复吸行为检测 将经过rTMS治疗后的大鼠放入饲养笼，观察其完成自然戒断后，再次放入自身给药实验笼中，进行3 h的训练，开始训练前给予1次条件性刺激，即灯笼、鼻触红灯以及注射泵开启声音，但不给予MA注射，之后每次有效鼻触反应均可获得1次条件性刺激，但同样不给予MA注射，记录大鼠实验过程中的有效鼻触反应和无效鼻触反应次数。

1.7 大鼠海马组织病理变化情况观察 将完成行为学试验后的各组大鼠用戊巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉后侧腹朝上固定，剪开胸腔将心脏完全暴露出来，用注射针插入左心室心尖处，剪开右心耳，通过注射泵注射含20 IU/ml肝素的生理盐水，待流出液无血色后，用4%多聚甲醛溶液灌流，发现躯体变白、僵硬后于冰上迅速断头处死，剥离海马组织后，用10%甲醛固定3 d后，用石蜡包埋后制成5 μm厚的切片。

1.7.1 HE染色观察海马组织 将制备好的切片经二甲苯脱蜡2次后，用从高到低的梯度乙醇透明，苏木精染色5 min，盐酸分化15 s，流水返蓝15 min，伊红染色2 min，在用从低到高的梯度乙醇脱色，二甲苯脱水透明后封片，利用Olympus光学显微镜观察海马组织病理形态学变化，并拍照记录。

1.7.2 尼氏染色观察海马组织 将制备好的切片用去离子水洗涤2次，2 min/次，用提前配制好的尼氏染色液染12～15 min，完成后再次用去离子水清洗2次、30 s/次，95%乙醇脱水2次、2 min/次，二甲苯脱水透明2次、5 min/次，完成后用中性树胶封片，利用Olympus光学显微镜观察海马组织病理形态学变化，并拍照记录。

1.7.3 电镜下观察海马CA3区突触超微结构 利用KBL III型超薄切片机先切取1 μm半薄切片观察定位后，继续切取75 nm的超薄切片，用醋酸双氧铀－枸橼酸铅染色后，在H-800型透射电镜下观察并拍照记录用于分析大鼠神经突触的面数密度、面积密度和体积密度情况。

1.8 统计学处理 采用SPSS 20.0软件进行数据分析，实验数据用$\bar{x} \pm s$表示，对于服从正态分布的连续型资料，采用单因素方差分析(One-way ANOVA)进行多组间比较，组间差异有统计学意义时，进一步采用LSD进行比较，$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 rTMS对MA大鼠旷野实验的影响 与对照组相比，模型组大鼠旷野实验的水平及垂直得分均降低；与模型组向比，实验组大鼠水平及垂直得分均升高，差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 各组大鼠旷野实验结果比较(分，$\bar{x} \pm s$，$n=10$)

组别	水平得分	垂直得分
对照组	32.18±3.69	9.42±2.18
模型组	22.54±2.51*	5.34±1.72*
实验组	31.57±2.95#	9.13±2.44#
*F*值	30.547	11.378
*P*值	<0.001	<0.001

与对照组比较：* $P<0.05$；与模型组比较：# $P<0.05$

2.2 rTMS 对 MA 大鼠水迷宫实验的影响 与对照组相比，模型组和实验组大鼠水迷宫学习及记忆任务完成时间延长，错误次数增多，而实验组大鼠水迷宫学习、记忆任务完成时间要短于模型组，差异有统计学意义（$P<0.05$），但错误次数差异无统计学意义（$P>0.05$）。见表2。

表2 各组大鼠水迷宫实验结果比较（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

组别	学习能力		记忆能力	
	时间（s）	错误次数（次）	时间（s）	错误次数（次）
对照	18.12±5.28	2.42±1.28	28.59±4.82	3.52±1.61
模型	54.15±10.52*	5.51±2.46*	82.15±10.25*	6.12±2.29*
实验	43.58±6.37*#	4.86±1.73*	68.24±4.73*#	5.85±1.76*
F值	57.432	7.453	153.791	5.607
P值	<0.001	0.003	<0.001	0.009

与对照组比较：* $P<0.05$；与模型组比较：# $P<0.05$

2.3 rTMS 对条件线索诱导大鼠 MA 复吸行为的影响 与自然戒断前相比，条件线索诱导后模型组大鼠有效鼻触次数减少，但差异无统计学意义（$P>0.05$），实验组大鼠有效鼻触数降低，差异有统计学意义（$P<0.05$）；与模型组相比，条件线索诱导后实验组大鼠有效鼻触数降低，差异有统计学意义（$P<0.05$），无效鼻触数差异无统计学意义（$P>0.05$）。见表3。

表3 模型组与实验组大鼠复吸行为情况比较（次，$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

组别	自然戒断前		rTMS 治疗后	
	有效鼻触	无效鼻触	有效鼻触	无效鼻触
模型	68.58±6.21	5.35±2.28	66.25±4.82	5.18±1.61
实验	65.24±6.73	5.08±1.73	18.24±2.73*#	5.12±1.76
t值	1.153	0.298	27.407	0.080
P值	0.264	0.769	<0.001	0.938

与自然戒断前比较：* $P<0.05$；与模型组比较：# $P<0.05$

2.4 rTMS 对 MA 大鼠海马组织病理学影响 HE 染色结果显示：对照组大鼠海马细胞排列整齐紧密，细胞大小均一，细胞核明显，模型组大鼠可见海马细胞排列分散，形态不规则，部分细胞细胞核明显变小甚至消失，实验组大鼠海马细胞结构基本正常，排列较为整齐，细胞核变形情况较少。见图1。

尼氏染色结果显示：与对照组大鼠相比，模型组和实验组大鼠尼氏小体数目和平均光密度均降低，与模型组大鼠相比，实验组大鼠尼氏小体数目和平均光密均显著升高，差异有统计学意义（$P<0.05$）。见图2。

2.5 rTMS 对 MA 大鼠突触超微结构的影响 醋酸铀－枸橼酸铅双染色结果显示：对照组大鼠海马 CA3 区神经突触数量多，结构清晰，突触前成分中可见数量较多且排列紧密的圆形突触小泡（图3A 中黑色箭头所指），模型组大鼠海马 CA3 区神经突触数量明显减少，突触前、后膜有融合情况，突触小体较为松散，且数量也明显减少（图3B 中黑色箭头所指），实验组大鼠海马 A3 区突触数量较对照组少，模型组多，突触前、后膜之间可见少量融合，分界线较为清晰（图3C 中黑色箭头所指）。与对照组相比，模型组大鼠 CA3 区神经突触面数密度、面积密度及体积密度均降低，差异有统计学意义（$P<0.05$），实验组大鼠 CA3 区神经突触面数密度、面积密度降低，差异有统计学意义（$P<0.05$），体积密度差异无统计学意义（$P>0.05$）；与模型组相比，实验组大鼠 CA3 区神经突触面数密度、面积密度及体积密度均升高，差异有统计学意义（$P<0.05$）。见表4。

表4 各组大鼠海马 CA3 区突触相关指标比较（$\bar{x}\pm s$，$n=5$）

组别	面数密度（个/μm^2）	面积密度（$\mu m^2/\mu m^2$）	体积密度（$\mu m^3/\mu m^2$）
对照	6.25±0.82	0.69±0.15	0.07±0.01
模型	4.38±0.53**	0.35±0.08**	0.03±0.01**
实验	5.32±0.63*#	0.52±0.11*#	0.06±0.01#
F值	9.712	10.573	21.667
P值	0.003	0.002	<0.001

与对照组比较：* $P<0.05$，** $P<0.01$；与模型组比较：# $P<0.05$

3 讨论

静脉自身给药 MA 模型，作为目前国际公认的一种能够有效模拟人类主动吸食 MA 的模型，通过完整的给药获得、维持、戒断、消退及条件线索诱导复吸过程，能够为 MA 成瘾的研究提供很好的参考作用[8]。本研究为了探讨 rTMS 对 MA 依赖大鼠复吸行为的影响，在自然戒断过程中给予了持续 7 d 的 rTMS 治疗，与开始自然戒断前相比，治疗后的 MA 大鼠有效鼻触数明显减少，表明 rTMS 治疗能够有效干预条件线索诱导的 MA 复吸行为。可能是因为 rTMS 作为一种非侵入生物刺激技术，对于神经系统功能有较大的影响，有研究表明，rTMS 能够影响神经递质水平，降低多巴胺水平[9]，而腹侧背盖区投射到伏隔核及前额叶皮层的中脑－边缘多巴胺奖赏系统环路是 MA 成瘾及复吸的关键神经通路[10]，因此推测 rTMS 可能是通过抑制多巴胺水平，阻滞中脑－边缘多巴胺奖赏系统环路，从而干预了

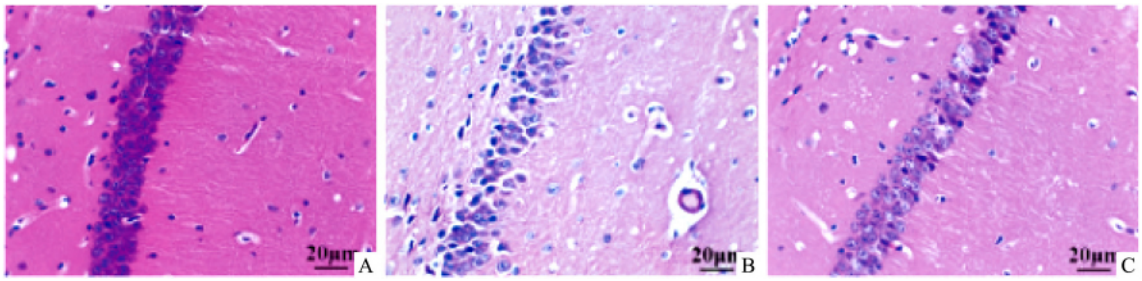

图1 各组大鼠海马组织的 HE 染色结果 ×400
A: 对照组; B: 模型组; C: 实验组

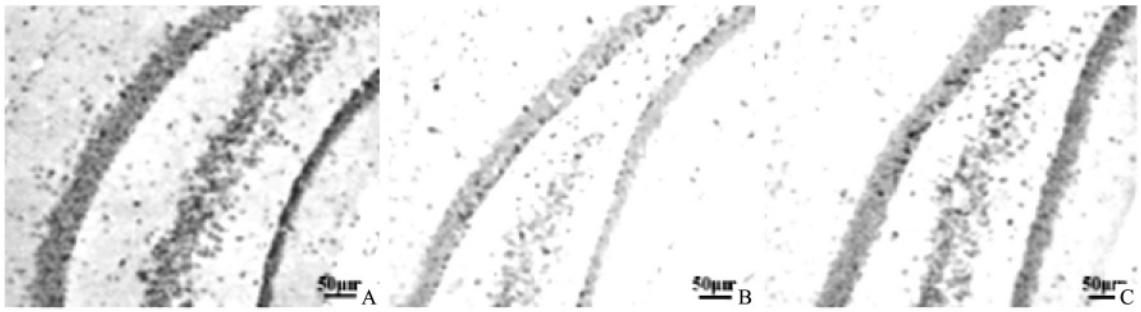

图2 各组大鼠海马组织的尼氏染色结果 ×100
A: 对照组; B: 模型组; C: 实验组

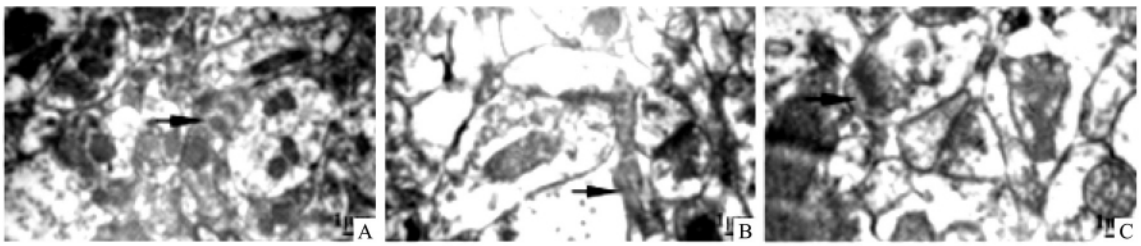

图3 各组大鼠海马 CA3 区突触醋酸铀 – 枸橼酸铅双染色结果 ×40 000
A: 对照组; B: 模型组; C: 实验组

MA 大鼠复吸行为。

旷场实验能够通过观察实验动物在新环境下的特定行为发生频率和持续时间来反映实验动物的自主行为及探索行为，而这一过程与人类的复杂情绪变化类似，因此常用于实验动物海马功能的测试[11]。水迷宫实验作为研究海马功能相关的空间学习记忆的检测手段，可有效反映动物的空间学习记忆能力[12]。对 MA 成瘾大鼠进行旷野实验及水迷宫实验发现，其旷野实验的水平及垂直得分明显降低，水迷宫实验的学习、记忆时间显著变长，错误次数也显著增多，表明 MA 能够显著损伤大鼠的神经学习记忆能力，而经过 rTMS 治疗后，旷野实验的水平及垂直得分明显升高，且与正常大鼠没有明显差异，而水迷宫的学习、记忆时间虽然明显缩短，但还是要高于对照组，且错误次数没有明显变化，这表明虽然 rTMS 能够一定程度的改善 MA 引起的神经损伤，但由于 MA 引起神经损伤的机制较为复杂，因此仅通过 rTMS 治疗是无法完全恢复的。有研究[13]表明，突触前突触素(synaptophysin，Syn)作为研究突触可塑性最常用的 1 个指标，rTMS 治疗后，脑缺血大鼠海马组织中 Syn 表达水平显著升高，突触后致密物质(postsynaptic density，PSD)作为中枢突触结构可塑性的重要指标，与学习、记忆的训练及保持能力关系密切，缺血时会引起 PSD 厚度减少，而 rTMS 治疗后，可明显增加 PSD 厚度，改善突触界面曲率和穿孔性突触比率，进而改善大鼠的学习记忆功能[14]，因此推测 rTMS 可能是通过促进 MA 大鼠海马组织中 Syn 表达水平及改变 PSD 厚度，来改善 MA 引起的神经学习记忆功能损伤。同时对各组大鼠海马组织结构进行光镜和电镜观察结果发现，MA

大鼠海马细胞损伤较为严重，尼氏小体及平均光密度均显著降低，CA3 区神经突触数量减少，突触前、后膜融合，突触小泡数量减少，均表明 MA 对神经元产生了损伤，但经过 rTMS 治疗后，神经元损伤明显改善，且突触形态学参数也有所改善，但尚未达到正常水平，可能是突触可塑性改变速度相对较慢，与白冰 等[15] 研究一致。

综上所述，rTMS 可有效干预 MA 大鼠的复吸行为，并且还可能通过改善大鼠的突触可塑性来缓解 MA 对大鼠神经海马组织的损伤及学习记忆功能的影响。但 rTMS 改善 MA 神经毒性作用的具体机制尚不清楚，还需要进一步探讨。

参考文献

[1] Kim S J, Marsch L A, Hancock J T, et al. Scaling up research on drug abuse and addiction through social media big data [J]. J Med Internet Res, 2017, 19(10): e353.

[2] Prakash M D, Tangalakis K, Antonipillai J, et al. Methamphetamine: effects on the brain, gut and immune system [J]. Pharmacol Res, 2017, 120: 60 - 7.

[3] Huang X, Chen Y Y, Shen Y, et al. Methamphetamine abuse impairs motor cortical plasticity and function [J]. Mol Psychiatry, 2017, 22(9): 1274 - 81.

[4] 徐静涛，张 付，杨幸怡，等. 甲基苯丙胺所致的大鼠神经毒性损伤及 nNOS 抑制剂的保护作用 [J]. 中国药理学通报，2014，30(8)：1101 - 6.

[5] Mayer G, Aviram S, Walter G, et al. Long-term follow-up of adolescents with resistant depression treated with repetitive transcranial magnetic stimulation [J]. J ECT, 2012, 28(2): 84 - 6.

[6] Feng S F, Shi T Y, Yang F, et al. Long-lasting effects of chronic rTMS to treat chronic rodent model of depression [J]. Behav Brain Res, 2012, 232(1): 245 - 51.

[7] 崔立玲，朱志中，程元元，等. 低频重复经颅磁刺激对卒中后抑郁大鼠行为学及海马 c-fos、c-jun 蛋白表达的影响 [J]. 中国康复医学杂志，2017，32(10)：1119 - 23，1134.

[8] 孙 艳，马宝苗，黄坤玉，等. 大鼠甲基苯丙胺自身给药行为模型构建 [J]. 中国药物依赖性杂志，2012，21(6)：417 - 21.

[9] Khedr E M, Rothwell J C, Shawky O A, et al. Dopamine levels after repetitive transcranial magnetic stimulation of motor cortex in patients with Parkinson´s disease: Preliminary results [J]. Mov Disord, 2007, 22(7): 1046 - 50.

[10] Kavanagh K A, Schreiner D C, Levis S C, et al. Role of adenosine receptor subtypes in methamphetamine reward and reinforcement [J]. Neuropharmacology, 2015, 89: 265 - 73.

[11] 张鹏横，阮璐薇，卓泽伟，等. 情绪异常大鼠模型的旷场行为实验在中医药领域的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志，2018，28(9)：100 - 3.

[12] 杨玉洁，李玉姣，李杉杉，等. 用于评价大小鼠学习记忆能力的迷宫实验方法比较 [J]. 中国比较医学杂志，2018，28(12)：129 - 34.

[13] 王 菲，耿 鑫，陶华英，等. 重复经颅磁刺激对血管性痴呆大鼠海马 CA1 区 BDNF、NMDAR1、SYN 表达及超微结构的影响 [J]. 中国神经精神疾病杂志，2010，36(7)：397 - 400.

[14] Ma J, Wang J, Lv C, et al. The role of hippocampal structural synaptic plasticity in repetitive transcranial magnetic stimulation to improve cognitive function in male SAMP8 mice [J]. Cell Physiol & Biochem, 2017, 41(1): 137 - 44.

[15] 白 冰，赵 琳，张朝辉，等. 重复经颅磁刺激对抑郁大鼠学习记忆及海马 CA3 区超微结构的影响 [J]. 中华物理医学与康复杂志，2014，36(7)：503 - 7.

Effects of low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation on relapse behavior, memory function and hippocampus in rats with methamphetamine addiction

Xu Xiaojin, Fang Maosheng, Miao Ying, et al

(*Dept of Psychiatry, Wuhan Mental Health Center, Wuhan* 430012)

Abstract ***Objective*** To study effects of low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation(rTMS) on relapse behavior, memory function and hippocampus of rats with methamphetamine(MA) addiction. ***Method*** 60 SD rats were randomly divided into control group, model group and experimental group. Fixed ratio 1 was applied in model group and experimental group to establish self-administration models of MA rats. In the process from model establishment to successful natural withdrawal, rats in experimental group were treated with rTMS for 7d, while rats in model group and control group were only treated with sham stimulation. After completion, learning and memory ability of rats in each group was determined by wilderness experiment and Morris water maze test. After rats in model group and experimental group were given conditional clue induction, presence or absence of relapse behaviors was observed. After the end of the experiment, rates were sacrificed. The cerebral hippocampus was taken for

网络出版时间:2020 - 4 - 7 16:48 网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20200403.1821.005.html

IRF9 基因沉默对雨蛙素诱导的大鼠胰腺腺泡细胞 AR42J 细胞凋亡的影响

薛彬华,余维丽,王小蝶,刘 奕

摘要 **目的** 探讨干扰素调节因子 IRF9 基因沉默对雨蛙素诱导的大鼠胰腺腺泡细胞 AR42J 细胞凋亡的影响,阐述 IRF9 在急性胰腺炎(AP)发生发展中的作用。**方法** AR42J 细胞培养至对数期,分为空白对照组、阴性对照组及 IRF9 沉默组。成功转染 siRNA 后应用雨蛙素诱导 AR42J 细胞构建体外急性胰腺炎模型。采用 qRT-PCR 和 Western blot 方法检测 AR42J 细胞中 IRF9 基因、Caspase 3 及 Caspase 9 的 mRNA 及蛋白的表达水平;流式细胞术检测 AR42J 细胞凋亡率。**结果** ① 雨蛙素诱导 24 h 后,各组中的 IRF9 基因的 mRNA 及蛋白水平均较雨蛙素诱导前升高,Caspase 3 及 Caspase 9 的 mRNA 及蛋白的表达水平亦明显升高,说明发生 AP 时 IRF9 及凋亡相关基因的表达水平均上调。② 与空白对照组相比,雨蛙素诱导后 IRF9 沉默组 AR42J 细胞的凋亡率有明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 发生 AP 时 IRF9、Caspase 3 及 Caspase 9 的表达水平均上调,细胞凋亡率增加,IRF9 基因沉默降低了雨蛙素诱导的体外 AP 细胞模型的细胞凋亡。

关键词 IRF9 基因沉默;AR42J 细胞;雨蛙素;细胞凋亡
中图分类号 R 34
文献标志码 A **文章编号** 1000 - 1492(2020)04 - 0508 - 05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2020.04.005

2019 - 12 - 26 接收
基金项目:安徽省自然科学基金(编号:1508085QC49);安徽医科大学第二附属医院博士科研启动基金(编号:2014bkj034)
作者单位:安徽医科大学第二附属医院重症医学科,合肥 230601
作者简介:薛彬华,女,硕士研究生;
余维丽,女,副研究员,硕士生导师,责任作者,E-mail:yuweilial@163.com

急性胰腺炎(acute pancreatitis,AP)是由胰腺的急性炎症所引发的一种疾病,其特点是炎症发生和胰腺坏死及凋亡[1]。据报道[2],胰腺腺泡细胞炎症的发生、增殖、凋亡均参与 AP 的发生发展。IRF9 是干扰素调节因子(interferon regulatory factor,IRF)中的一员,迄今为止,在哺乳动物中发现了 9 种 IRF:IRF1 ~ 9[3]。越来越多的证据表明 IRF 在转录调控、应激反应、细胞因子信号转导、凋亡和增殖调控及自稳平衡、炎症反应等方面都有着重要的作用[3-6]。IRF 参与多种疾病的发生发展过程,包括系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、炎症性肠病,以及肿瘤发生及心血管疾病等[3-4,7]。干扰素调节因子 IRF9 在 AP 中的具体机制目前未见文献报道。该课题旨在研究 IRF9 基因沉默对雨蛙素诱导的大鼠胰腺腺泡细胞 AR42J 凋亡的影响,阐释 IRF9 基因在 AP 发生发展中的作用。

1 材料与方法

1.1 细胞培养 大鼠胰腺腺泡细胞 AR42J 购于上海富衡细胞库。细胞培养基 DMEM + 100 mg/L 青霉素 + 10% 胎牛血清,1 ~ 2 d 传代。Opti-MEM(x1)和 Lipofectamine 2000 均购于美国 LifeTechnology 公司。

slicing up. After HE staining, Nissl staining and uranyl acetate-lead citrate staining, changes of hippocampus were observed. ***Results*** The MA addiction rat models were successfully prepared. The learning and memory ability in model group was reduced. The rTMS treatment could effectively improve learning and memory treatment of rats with MA addiction. After natural withdrawal, there were relapse behaviors in rats of model group given conditional clue induction. After rTMS treatment, number of effective nasal touching under conditional clue induction was significantly decreased. In hippocampus of MA addiction rat models, number of Nissl bodies and average optical density decreased. The number of synapses in CA3 area reduced. There was fusion in anterior and posterior membranes. The number of synaptosomes reduced. The rTMS treatment could alleviate pathological changes to some extent. ***Conclusion*** The rTMS treatment can improve memory function and hippocampus tissue damage in MA addiction rats, and inhibit MA relapse behavior under conditional clue induction.

Key words methamphetamine; addiction; low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation; relapse