

- vere sepsis in the United States; analysis of incidence, outcome, and associated costs of care[J]. Crit Care Med, 2001, 29(7): 1303 - 1310
- 2 Dombrovskiy VY, Martin AA, Sunderram J, *et al.* Rapid increase in hospitalization and mortality rates for severe sepsis in the United States; a trend analysis from 1993 to 2003[J]. Crit Care Med, 2007, 35(5): 1414 - 1415
- 3 Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, *et al.* Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008[J]. Intensive Care Med, 2008, 34(1): 17 - 60
- 4 Baue AE, Faist E, Fry DE, *et al.* Multiple organ failure [M]. New York: Springer Verlag, 2000: 3 - 13
- 5 代静泓, 邱海波, 杨毅, 等. 1991 ~ 2001 年 ICU 感染性休克病死危险因素分析及临床对策[J]. 中华急诊医学杂志, 2003, 2(2): 474 - 476
- 6 Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, *et al.* Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study[J]. Critical Care Medicine, 2006, 34(2): 344 - 353
- 7 Annane D, Aegerter P, Claude M, *et al.* Current epidemiology of septic shock: the CUB - Rea Network[J]. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2003, 168(2): 165 - 172
- 8 Silva E, Pedro M, Sogayar A, *et al.* Brazilian Sepsis Epidemiological Study (BASES study)[J]. Critical Care, 2004, 8(4): R251 - 260
- 9 王晓梅, 董云. 多器官功能障碍综合征与胃肠道的关系[J]. 中国急救医学, 2003, 23(5): 324 - 325
- 10 Brun - Buisson C, Doyon F, Carlet J, *et al.* Incidence, risk factors, and outcome of severe sepsis and septic shock in adults. A multicenter prospective study in intensive care units. French ICU Group for Severe Sepsis[J]. JAMA, 1995, 274(12): 968 - 974
- 11 徐丽华, 卢中秋, 王明山, 等. 脓毒症休克患者凝血功能紊乱与病情严重度及预后的关系[J]. 中国急救医学, 2008, 28(5): 403 - 405
- 12 Yu DT, Platt R, Lanken PN, *et al.* Relationship of pulmonary artery catheter use to mortality and resource utilization in patients with severe sepsis[J]. Critical Care Medicine, 2003, 31(12): 2734 - 2741
- 13 Khwannimit B, Bhurayanontachai R. The epidemiology of, and risk factors for, mortality from severe sepsis and septic shock in a tertiary - care university hospital setting[J]. Epidemiology and infection, 2009, 137(9): 1333 - 1341
- 14 刘刚, 江宇, 卢中秋, 等. 感染性休克死亡率和危险因素分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2007, 17(10): 1229 - 1231
- 15 Cheng BL, Xie GH, Yao SL, *et al.* Epidemiology of severe sepsis in critically ill surgical patients in ten university hospitals in China[J]. Critical Care Medicine, 2007, 35(11): 2538 - 2546
- 16 徐子琴, 卢中秋, 徐敏, 等. 三种评分系统在脓毒性休克预后评估中的应用[J]. 温州医学院学报, 2009, 39(1): 47 - 49

(收稿: 2011 - 07 - 20)

(修回: 2011 - 07 - 25)

部分毁损内嗅区皮质区对吗啡戒断大鼠行为学 and 海马结构 CREB 表达的影响

焦润生 贾淑伟 李文楠 肖宇 杨晓芳 杨永滨 徐满英 李伟东

摘 要 **目的** 本探究使用兴奋型神经毒海人藻酸(kainate, KA)部分毁损海马结构信息的主要传入通路内嗅区皮质后, 观察吗啡成瘾大鼠戒断时海马结构中 CREB 蛋白的表达变化及吗啡戒断鼠的行为学的变化。**方法** 实验使用 Wistar 大鼠, 随机均分为 4 组: ①对照组: 背部肩胛间皮下注射与实验组等体积的生理盐水; ②戒断组: 背部肩胛间皮下注射盐酸吗啡; ③戒断注生理盐水组: 在背部肩胛间皮下注射吗啡, 再在内嗅区皮质注射生理盐水; ④戒断注 KA 组: 在背部肩胛间皮下注射吗啡, 再在内嗅区皮质注射 KA。对照组、戒断注生理盐水组和戒断注 KA 组连续注射 6 天吗啡, 每天按体重增加吗啡量, 使之快速成瘾; 注射吗啡 6 天后, 不再注射, 开始观察戒断症状并在内嗅区皮质注射 KA; 戒断 52h 后, 处死全部大鼠, 用免疫组化染色方法观察各组大鼠海马结构内 CREB 蛋白的表达。**结果** ①在戒断症状出现的高峰期, 单纯戒断组与对照组相比大部分戒断症状的行为学指标都具有阳性意义; 戒断注 KA 组与单纯戒断组或者戒断注射生理盐水组相比大部分戒断症状的行为学指标下降较明显; 戒断注 KA 组与对照组相比大部分戒断症状的行为学指标差异不明显; ②CREB 在对照组、戒断组、戒断注生理盐水组以及戒断注射 KA 组的表达不同, 其中在戒断注射生理盐水组的表达最高, 其次为戒断组, 在戒断注射 KA 组表达较低, 而在对照组表达最低。**结论** 毁损内嗅区皮质后吗啡成瘾大鼠的戒断症状明显减少, 同时海马结构中的 CREB 表达减少, 海马结构可能在大鼠 CREB 介导的成瘾记忆中有重要作用。

基金项目: 黑龙江省教育厅资助科技项目(11541141)

作者单位: 150086 哈尔滨医科大学大学生理教研室

通讯作者: 徐满英, 电子信箱: xumanying@sohu.com

关键词 海马 吗啡成瘾 行为学 免疫组化

Partly Destroying Entorhinal Area Effects on Praxiology Indexes and CREB Protein Expression of Hippocampus Formation in the Withdrawal Rats. Jiao Runsheng, Jia Shuwei, Li Wennan, Xiao Yu, Yang Xiaofang, Yang Yongbin, Xu Manying, Li Weidong. Department of Physiology, Harbin Medical University, Heilongjiang 150086, China

Abstract Objective Morphine addiction maybe relate with a special memorize. This memorize is possible majorly concerned with CREB signal transduction pathway. To investigate the function of hippocampal formation in withdrawal rats of morphine addiction, we observed the CREB protein expression changes, and researched the behavioral changes in withdrawal rats after partly destroyed the entorhinal cortex by administration of excited nervous poison - kainic acid. **Methods** Totally 40 Wistar rats were divided into 4 groups: ①Control group, only treated with subcutaneous injection of saline; ②Withdrawal group, treated with subcutaneous injection of morphine; ③Withdrawal Saline group, treated with subcutaneous administration of morphine before intra - nuclear injection of saline at entorhinal cortex; ④Withdrawal KA group, treated with intra - nuclear injection of kainic acid at entorhinal cortex after subcutaneous injection of morphine. During 6 days rats in group ②, ③ and ④ were continuously injected morphine according to body weight, to make all the rats quickly addict to morphine. The injection of morphine ceased after 6 days, then withdrawal syndromes were evaluated and started to treat with KA at entorhinal cortex. All the rats were killed at 52 hours after ceasing injection of morphine. Two - steps immunohistochemistry was used to observe the expression of CREB in Hippocampal Formation. **Results** ①At the crest - time of morphine abstinent syndromes, largely kinds of withdrawal syndromes had significant difference in Withdrawal group comparing with control group, but the scores in Withdrawal KA group comparing with control group had no significant difference. ②Expressions of CREB protein in various groups were different, and the expression was highest in withdraw saline group, higher in withdraw group, lower in withdrawal KA group, and lowest in control group. **Conclusion** Withdraw syndromes were obviously decreased in Withdrawal KA group after destroying entorhinal area, meanwhile expression of CREB protein was also decreased, which may indicate that hippocampal formation plays an important role in the addiction memory mediated by CREB.

Key words Hippocampus; Morphinistic; Praxiology; Immunohistochemistry

cAMP 反应结合元件 (cAMP response element binding protein, CREB) 是一种作为转录因子的核蛋白,它能够和某些基因启动区序列中的环磷酸腺苷反应元件结合,启动新基因的转录^[1]。CREB 是神经系统中主要的转录调节因子之一,其调节的蛋白表达主要包括:神经肽、神经递质合成酶、信号转导蛋白分子和其他转录因子。在细胞水平,CREB 可作为许多信号转导通路的节点^[2]。实验表明,阿片和其他成瘾性药物的作用与 cAMP 介导的信号转导通路有关,CREB 的活化与海马结构的长时程增强 (long - term potentiation, LTP) 的形成有密切关系^[3~7]。LTP 是一种突触可塑性的改变,这种变化是学习的一种重要神经生物学机制,可能与第二级记忆向第三级记忆的转移有关。海马结构除了被认为是参与空间记忆的重要大脑结构,而且还参与了短时记忆向长时记忆的转化。当慢性可卡因给药时,可促进脑中 cAMP 的形成,而且增加 PKA 的活性,后者活性的增加可以增强 CREB 的磷酸化水平,对 LTP 有加强作用。在 CREB 基因敲除小鼠中,LTP 则不能形成。海马结构是参与学习和记忆有关的重要脑区之一,而吗啡引起 CREB 的表达改变可能与海马结构某些记忆形成有直接关

系。根据神经解剖学,进入海马结构的主要神经纤维来自于内嗅区皮质,本实验尝试用兴奋性神经毒海人藻酸部分毁损内嗅区皮质,减少进入海马结构的信息通路后,拟用免疫组织化学的方法探究大鼠吗啡戒断时海马中 CREB 的变化,以及这种破坏对戒断症状行为学指标的影响,进而揭示海马结构在吗啡成瘾戒断时所起的作用。

材料与方法

1. 材料:实验动物由哈尔滨医科大学附属第二医院动物中心提供。选择成年、健康雌性 Wistar 清洁级大鼠,体重 170 ~ 300g;在室温和自然光照的环境下饲养,水食自由摄取。

2. 药物及试剂:海人藻酸 (sigma),浓度为 2 μg/μl;盐酸吗啡 (沈阳第一制药厂);兔抗鼠 p - CREB 多克隆抗体、PV - 9000 试剂盒和 DAB 染色剂,均购自武汉博士德生物工程有限公司。0.01mol/L 的 PBS 缓冲液, pH 值为 6.0;0.01mol/L 的枸橼酸盐抗原修复液的 pH 值为 7.4。

3. 仪器设备:实验使用的主要仪器及型号为:Olympus 光学显微镜 (日本光学工业株式会社),烘箱 (北京光明医疗仪器厂),SN - 2 立体定位仪 (Narishige),SM - 21 微操纵器 (Narishige) 和 Leica2155 多功能切片机 (德国)。

4. 建立吗啡成瘾动物模型:将大鼠随机均分为 4 组,分别为:①对照组:背部肩胛间皮下注射与实验组等体积的生理盐水,连续 6 天;②戒断组:背部肩胛间皮下注射递增剂量的盐

酸吗啡,连续 6 天;③戒断注生理盐水组:在背部肩胛间皮下注射递增剂量的吗啡 6 天后,再在内嗅区皮质注射生理盐水 2 微升/次;④戒断注 KA 组:在背部肩胛间皮下注射吗啡 6 天后,再在内嗅区皮质注射 KA 1 次。②组、③组和④组,3 个实验组连续每天 3 次皮下注射吗啡共 6 天,每天按体重增加吗啡量,使之快速成瘾,剂量时间按照表 1 所示^[4]。实验组注射吗啡 6 天后,开始观察戒断症状并在内嗅区皮质注射 KA,根据具体分组用立体定位仪控制微量注射器在两侧内嗅区皮质分别注射生理盐水或者 2 μg/μl 的海人藻酸各 2 μl。72h 后,处死全部大鼠,用免疫组化染色方法观察各组大鼠海马结构内 CREB 蛋白的表达。在停止注射吗啡后,自然戒断后的行为学变化观察参照 Koob 吗啡成瘾大鼠躯体戒断症状评分标准进行打分。

表 1 吗啡注射的剂量与时间 (mg/kg)

时间 (天)	注射剂量		
	8:00	12:00	16:00
1	5	5	5
2	10	10	10
3	20	20	20
4	40	40	40
5	50	50	50
6	60	60	60

5. 免疫组化染色:大鼠经左心室向主动脉插管,用生理盐水冲洗净体循环血管内的瘀血后,再用 4% 多聚甲醛滴注固定,初步固定后,打开颅骨,取出大脑,定位,切取海马部位的脑组织。脑组织固定过夜 24h,自来水冲洗 24h,脱水,石蜡包埋,制成组织切片,在恒温 (68℃) 烤箱内烤片过夜。烤制的片子使用二甲苯脱蜡,梯度乙醇复水后,用 PBS 冲洗干净,再用 3% H₂O₂ 孵育 10min,以阻断内源性过氧化物酶,后用 PBS 冲洗 15min。采用加热法进行抗原修复,切片浸泡于 94℃ 以上枸橼酸盐缓冲液 15min,自然冷却至室温,再用 PBS 冲洗 15min。切片用小牛血清封闭 15min 后加一抗,用抗体稀释液稀释 p-CREB 抗体终浓度为 1:300,滴加后 4℃ 过夜。免疫组化以及 DAB 染色的其他实验过程参照试剂盒说明书进行。在光学显微镜下观察大鼠脑组织海马中 p-CREB 表达的免疫组化染色情况,拍照并应用多功能病理成像分析系统进行光密度分析。

6. 行为学观察:在停止注射吗啡后,自然戒断后的行为学变化观察参照 Koob 吗啡成瘾大鼠躯体戒断症状评分标准进行打分。大鼠首先放入洁净的大鼠笼中,适应 30min 后,开始观察吗啡成瘾大鼠躯体戒断症状,直接记录大鼠咬牙、直立、理毛、湿狗样抖动、伸展、舔阴等行为的次数,按行为的次数打分,出现一次得 1 分 (连续的动作每超过 30s,加 1 分)。

7. 内嗅区皮质注射药物:大鼠用 20% 的戊巴比妥钠麻醉后,固定于立体定位仪上,用骨钻在要注药部位的颅骨表面打开 1 个直径大约 3mm 的孔洞,用微操纵器控制微量注射器注

入药物 2 μl,注药后留针 10min,防止药物从注射路径溢出。
8. 统计学方法:本实验所有数据均使用 SPSS 13.5 进行分析。计量资料表示为均数 ± 标准误 ($\bar{x} \pm SD$) 的形式,采用方差分析检验,组间比较采用 SNK 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 戒断症状的行为学评分比较:连续观察停止注药后的戒断症状,大约在停止注射吗啡后 40 ~ 72h,戒断症状出现并达到高峰,这和我研究室以往的实验结果一致^[8]。在戒断症状的高峰期,将行为观察的实验数据整理如下,见表 2。单纯戒断组与生理盐水组相比,戒断总分和各项指标均有统计学差异,说明这段时间内戒断症状明显,模型制作成功;戒断注射 KA 组与戒断注射生理盐水组比较各项指标均有下降,有显著统计学意义的指标有:理毛、直立、齿颤、咀嚼、喷嚏、舔阴、湿抖、伸展、寒战和总平均分;戒断注射 KA 组与单纯戒断组相比较各项戒断症状评分也有较明显下降,除甩头外的各项统计学指标均有显著性差异;戒断注射 KA 组与正常对照组相比较,除了舔阴和甩头两个行为学指标和总平均分稍有不同外,其他各项指标均无统计学差异,说明注射 KA 有一定效果。

表 2 吗啡戒断 48h 大鼠行为学评分比较

行为	正常	单纯	戒断注生	戒断注 KA 组
	对照组	戒断组	理盐水组	
理毛	3.4 ± 1.0	6.5 ± 1.1 **	6.0 ± 1.7 **	3.7 ± 0.9 ^{##}
直立	0.6 ± 0.7	4.2 ± 0.9 **	4.9 ± 0.7 **	1.0 ± 0.9 ^{##}
齿颤	0.9 ± 0.6	4.9 ± 0.7 **	4.7 ± 0.5 **	0.9 ± 0.6 ^{##}
咀嚼	1.5 ± 0.7	3.1 ± 0.7 **	2.7 ± 0.5 **	0.9 ± 0.6 ^{##}
喷嚏	0.7 ± 0.5	5.3 ± 0.7 **	4.3 ± 0.5 ^{##}	1.4 ± 0.5 ^{##}
舔阴	0.2 ± 0.4	3.3 ± 0.9 **	2.1 ± 0.9 ^{##}	0.9 ± 0.9 ^{###}
湿抖	0.6 ± 0.5	2.8 ± 1.1 **	2.5 ± 1.0 **	0.9 ± 0.9 ^{##}
伸展	0.4 ± 0.5	2.9 ± 0.7 **	2.6 ± 0.5 **	1.3 ± 1.2 ^{###}
寒战	0.3 ± 0.5	2.9 ± 0.6 **	2.6 ± 0.8 **	0.6 ± 0.7 ^{##}
甩头	0.2 ± 0.4	1.1 ± 1.1 *	1.5 ± 1.2 **	0.7 ± 0.7 [~]
总平均分	0.88 ± 1.09	3.70 ± 1.70 **	3.39 ± 1.65 **	1.23 ± 1.15 ^{###}

与正常对照组比较,* $P < 0.05$;与正常对照组比较,** $P < 0.001$;与单纯戒断组比较,[#] $P < 0.05$;与单纯戒断组比较,^{##} $P < 0.001$;与戒断注生理盐水组比较,[~] $P < 0.05$;与戒断注生理盐水组比较,⁻⁻⁻ $P < 0.001$

2. p-CREB 表达观察比较:从免疫组织化学的结果可见,在正常对照组,DAB 的棕褐色颗粒,在海马的表达较少,呈较弱的阳性表达,见图 1 的 A、B;在单纯戒断组,海马的神经元细胞布满了棕褐色颗粒,呈强阳性表达,见图 1 的 C、D;在戒断注生理盐水组,

神经元内的 DAB 颗粒也呈阳性分布,见图 1 的 E、F;在戒断注射 KA 组,神经元内的 DAB 颗粒表达较少,呈弱阳性分布,见图 1 的 G、H。

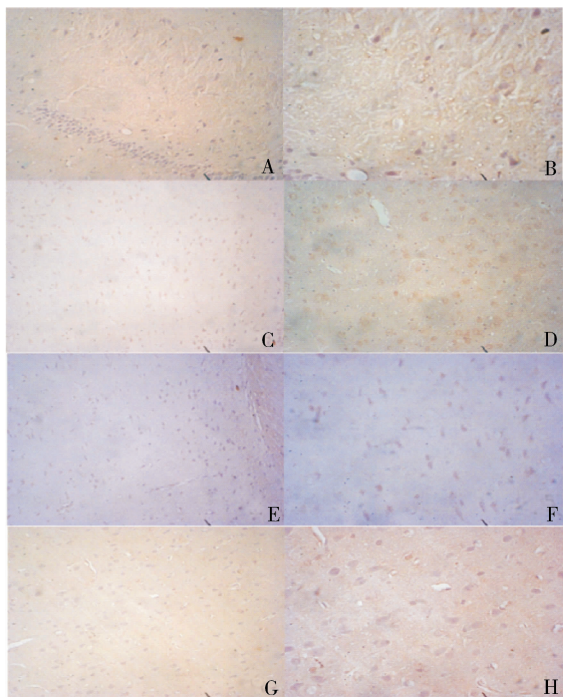


图 1 正常对照组、单纯戒断组、戒断注生理盐水组及戒断注射 KA 组的 p-CREB 表达观察比较

A、B. 正常对照组;C、D. 单纯戒断组;

E、F. 戒断注生理盐水组;G、H. 戒断注射 KA 组

3. p-CREB 表达平均光密度值比较:光镜下观察结果,阳性染色表现为细胞呈棕黄色,胞核呈蓝色。选用同批染色切片,每张切片在海马同一部位的随机选取 5 个视野($\times 400$),采用 Motic 软件开发公司的多功能成像分析系统拍照并计算染色阳性细胞棕色颗粒覆盖区的平均光密度值,近似代表表达强度的大小。从图 2 可以看到 p-CREB 表达的平均光密度,从高到低依次是戒断注生理盐水组、单纯戒断组、戒断注 KA 组、正常对照组;两两比较的结果是单纯戒断组和戒断注生理盐水组之间没有统计学差异,但他们与戒断注 KA 组比较都有统计学差异,以上 3 组与对照组比较均有统计学差异。

讨 论

1. 吗啡成瘾大鼠模型的评定:建立吗啡成瘾大鼠模型是研究阿片类药物依赖机制、评价药物脱毒效果和治疗药物成瘾性的一个基础工作^[9]。本实验模拟人类吗啡依赖者采取的连续用药,逐步增量的方法制作大鼠吗啡依赖模型,除了理毛没有统计学差异外,

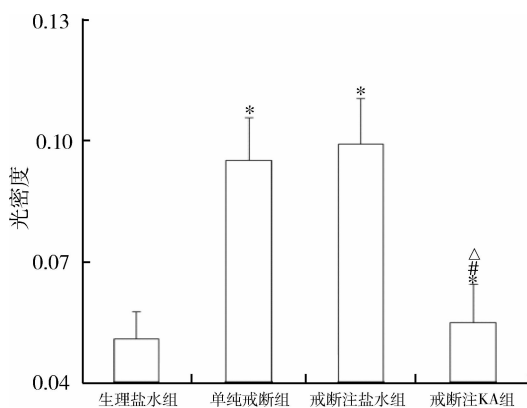


图 2 正常对照组、单纯戒断组、戒断注生理盐水组及戒断注射 KA 组的 p-CREB 表达平均光密度值

与正常对照组相比, * $P < 0.05$; 与单纯戒断组相比, # $P < 0.05$; 与戒断注生理盐水组比较, Δ $P < 0.05$

其他戒断症状和戒断总平均分的统计结果差异都比较显著。作为戒断症状的特征症状比如湿抖、咬牙和喷嚏等与正常对照组更是有显著性差异,充分表明吗啡组大鼠已成瘾。而且本实验动物饲养人员在采用剂量递增的方法制作吗啡成瘾模型时,观察到大鼠早期注射吗啡时,与工作人员对抗,似乎精神非常紧张,注药过程中也会强烈挣扎,后期注药时,抵抗减少、依从增加,不再强力挣扎;这些都是逐渐对吗啡形成依赖的表现。

2. 行为学差异的比较:在实验中,我们发现吗啡戒断后 52h 戒断评分明显增加,单纯戒断组显著高于正常对照组,而且戒断后在内嗅区皮质注射生理盐水对戒断症状没有明显影响,与单纯戒断组的戒断症状行为学评分大部分都没有显著差异;戒断内嗅区注射 KA 后,部分毁损了神经元的轴突投射,戒断症状行为学总评分与单纯戒断组和戒断注生理盐水组相比显著下降,与正常对照接近 $P = 0.028$ 。这一结果可能说明,2 μ l 的注射体积大鼠是可以接受的,没有对戒断行为产生明显的不良影响;而注射 KA 后,戒断症状行为学评分下降表明海马在诱发戒断症状过程中起重要作用。

神经解剖学研究显示,海马属于边缘系统的一部分,不仅接受各种躯体感受信息,而且接受内脏的感受信息,可能参与情感、痛反应和镇痛有关;海马还是 Papez 环路的主要节点之一,参与了学习记忆等高级神经活动。依赖于海马的学习过程包括空间学习、关联性条件恐惧和回避性学习等^[10-12];海马参与的记忆活动是非常重要的,主要是空间记忆和对空间的识

别记忆,特别是近年来已发现海马与成瘾记忆的形成有关,如 CA1 区在药物心理依赖上起重要作用。我们的研究表明,毁损海马的主要传入通路,能够减少大鼠的戒断症状,可能并不是阻碍了记忆形成,因为大鼠已经成瘾,所以有可能是妨碍记忆的调取过程。

单纯戒断组戒断期间湿抖、齿颤、伸展、舔阴等行为增加;戒断大鼠内嗅区皮质注射 KA 后,各种阶段症状的行为评分都有所减少,但与对照组还是有统计学差异,说明毁损内嗅区皮质的传入纤维后,能够减少戒断症状。海马和空间事务探索有关,所以这种减少可能与大鼠对空间环境的探究行为明显减少有关。

3. 海马区 CREB 表达的变化:本实验中,观察到在单纯戒断组、戒断后注生理盐水组和戒断后注 KA 组,大鼠海马区的 p-CREB 表达都有所增加,其中单纯戒断组和戒断后注 KA 组增加较多,而戒断后注 KA 组增加较少,这一方说明 p-CREB 与吗啡戒断有密切关系,CREB 可能参与吗啡戒断的过程,另一方面也说明 p-CREB 的表达也受到内嗅区皮质的传入信号的影响。P-CREB 的阳性表达可能与吗啡成瘾模型制作过程中慢性注药有关,以往研究发现慢性可卡因给药不仅可以促进伏隔核中 cAMP 的形成,而且增加 cAMP 依赖的蛋白激酶 A (PKA) 的活性,从而增加 CREB 的磷酸化水平^[13]。

目前认为精神依赖是一种牢固的长时记忆。对非哺乳动物和哺乳动物的研究都表明,行为学的长时程记忆需要 CREB 激活引发一系列基因的表达,导致新的突触联系的形成。机制可能与 LTP 有关,LTP 是指刺激后突触传递效率的长期持续性增强,具有持续性、联合性和可塑性等特征,是学习记忆的神经生物学机制之一,被认为是记忆形成的基础^[14,15]。LTP 常常能持续较长时间(>7h),称为 L-LTP (Late-LTP)。实验表明,CREB 的活化与 L-LTP 形成有密切关系,除了 cAMP-PKA-CREB 途径外,MAPK、CaMK、Ca²⁺ 等也同样参与了 CREB 的活化^[16,17]。CREB 与长时程记忆关系密切,它可以激活与长时程记忆密切相关的基因的表达,所以吗啡成瘾戒断时 CREB 的表达可能增加。

参考文献

- 1 Montminy MR, Bilezikjian LM. Binding of a nuclear protein to the cyclic-AMP responsive element of the somatostatin gene[J]. *Nature*, 1987, 328:175-178
- 2 Josselyn SA, Nguyen PV. CREB, synapses and memory disorders: past progress and future challenges[J]. *Curr Drug Targets CNS Neu-*

- rol Disord, 2005, 4(5):481-497
- 3 Rajasethupathy P, Fiumara F, Sheridan R, *et al.* Characterization of small RNAs in Aplysia reveals a role for miR-124 in constraining synaptic plasticity through CREB[J]. *Neuron*, 2009, 63(6):803-817
- 4 Lee YS, Bailey CH, Kandel ER, *et al.* Transcriptional regulation of long-term memory in the marine snail Aplysia[J]. *Mol Brain*, 2008, 1(1):1-3
- 5 Liu R, Fioravante YD, Shah S, *et al.* cAMP response element-binding protein 1 feedback loop is necessary for consolidation of long-term synaptic facilitation in Aplysia[J]. *J Neurosci*, 2008, 28(8):1970-1976
- 6 Fukushima T, Liu RY, Byrne JH. Transforming growth factor-beta2 modulates synaptic efficacy and plasticity and induces phosphorylation of CREB in hippocampal neurons[J]. *Hippocampus*, 2007, 17(1):5-9
- 7 Lee SH, Lim CS, Park H, *et al.* Nuclear translocation of CAM-associated protein activates transcription for long-term facilitation in Aplysia[J]. *Cell*, 2007, 129(4):801-812
- 8 赵春禹, 阎立昕, 吕宁. 急性吗啡成瘾大鼠模型的建立[J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2001, 35(4):257-258
- 9 陈志, 冯华. 吗啡依赖大鼠模型的戒断行为学比较[J]. *中国行为医学科学*, 2001, 10(1):11-12
- 10 Shipman SL, Astur RS. Factors affecting the hippocampal BOLD response during spatial memory[J]. *Behav Brain Res*, 2008, 187(2):433-441
- 11 Piekema C, Fernandez G, Postma A, *et al.* Spatial and non-spatial contextual working memory in patients with diencephalic or hippocampal dysfunction[J]. *Brain Res*, 2007, 1172:103-109
- 12 Smith DM, Mizumori SJ. Learning-related development of context-specific neuronal responses to places and events: the hippocampal role in context processing[J]. *J Neurosci*, 2006, 26(12):3154-3163
- 13 Self DW, Genova LM, Hope BT, *et al.* Involvement of cAMP-dependent protein kinase in the nucleus accumbens in cocaine self-administration and relapse of cocaine-seeking behavior[J]. *J Neurosci*, 1998, 18(5):1848-1859
- 14 Bliss TV, Collingridge GL. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus [J]. *Nature*, 1993, 361(6407):31-39
- 15 Torras M, Portell I, Morgado I. The amygdaloid body: functional implications[J]. *Rev Neurol*, 2001, 33(5):471-476
- 16 Hotte M, Thuaud S, Bineley KT, *et al.* Phosphorylation of CREB and DARPP-32 during late LTP at hippocampal to prefrontal cortex synapses in vivo[J]. *Synapse*, 2007, 61(1):24-28
- 17 Vitolo OV, Sant'Angelo A, Costanzo V, *et al.* Amyloid beta-peptide inhibition of the PKA/CREB pathway and long-term potentiation: reversibility by drugs that enhance cAMP signaling[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99(20):13217-13221

(收稿:2011-04-20)

(修回:2011-04-27)