

## 米诺环素抑制星形胶质细胞活化改善老年小鼠70%肝切除手术后远期学习和记忆能力

金文杰, 祁涛, 封洲, 陆顺梅, 钱燕宁, 黄亚辉\*

(南京医科大学第一附属医院麻醉科, 江苏 南京 210029)

**[摘要]** 目的:评价米诺环素对老年 C57BL/6 小鼠术后 30 d 学习和记忆能力的影响,并探讨星形胶质细胞在此过程中的作用。方法:45 只雄性 C57BL/6 老年小鼠随机分为 3 组(每组 15 只):假手术组,仅接受皮肤切开手术;手术组,该组小鼠接受 70%肝切除手术但不接受药物治疗;米诺环素组,术后每天腹腔注射 45 mg/kg 米诺环素,连续 30 d,每组 15 只。利用 Morris 水迷宫测试其逃避潜伏期和游泳距离以判断小鼠术后学习记忆能力的改变,行为学测试结束后即刻取小鼠海马组织,利用 real-time PCR 检测炎症细胞因子 TNF- $\alpha$  和 IL-6 mRNA 的相对表达量,利用 Western blot 检测胶质纤维酸性蛋白(GFAP)和离子钙接头蛋白抗体-1(Iba-1)的表达水平,另外取部分海马组织制作冰冻切片样本行免疫组织化学检测。结果:Morris 水迷宫测试显示手术组小鼠逃避潜伏期和游泳距离均延长,显著长于假手术组和米诺环素组( $P < 0.05$ );手术组小鼠海马组织 TNF- $\alpha$  mRNA 表达水平显著高于假手术组和米诺环素组( $P < 0.05$ ),米诺环素组小鼠 TNF- $\alpha$  mRNA 的表达显著少于手术组( $P < 0.05$ );手术组和米诺环素组小鼠 IL-6 mRNA 的表达水平显著高于假手术组( $P < 0.001$ ),米诺环素组小鼠 IL-6 mRNA 的表达显著少于手术组( $P < 0.001$ );手术组和米诺环素组 GFAP 的表达显著高于假手术组( $P < 0.001$ ),米诺环素组 GFAP 的表达水平显著少于手术组( $P < 0.001$ ),3 组 Iba-1 的表达水平无差异( $P > 0.05$ );海马组织免疫组化星形胶质细胞的变化与 GFAP 的变化一致。结论:海马组织星形胶质细胞活化可能与部分肝切除老年小鼠远期学习和记忆能力下降有关,米诺环素可能通过降低 TNF- $\alpha$  和 IL-6 mRNA 的表达,抑制星形胶质细胞的活化改善老年小鼠术后远期学习和记忆能力。

**[关键词]** 星形胶质细胞;米诺环素;术后认知功能障碍;中枢炎症反应

**[中图分类号]** R329.26

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2014)05-597-06

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20140512

## Minocycline improves postoperative long-term learning and memory ability in aged mice after 70% hepatectomy by inhibiting astrocytic activation

Jin Wenjie, Qi Tao, Feng Zhou, Lu Shunmei, Qian Yanning, Huang Yahui\*

(Department of Anesthesiology, the First Hospital Affiliated of NJMU, Nanjing 210029, Chian)

**[Abstract]** **Objective:** To evaluate the effect of minocycline on the long-term learning and memory ability for 30 days after surgery in C57BL/6 aged mice, and to explore the role of astrocytes in the process. **Methods:** Forty-five male C57/BL6 aged mice were randomly divided into 3 groups with 15 in each group: sham operation group only received skin incision, operation group received 70% hepatectomy without drugs administration, minocycline group intraperitoneally injected with 45 mg/kg minocycline once a day for 30 days after surgery. Hippocampal-dependent spatial learning and memory ability was evaluated using the Morris water maze (MWM). Then mice hippocampal tissue was sampled. The hippocampal mRNA relative expression levels of tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin 6 (IL-6) were tested using a real-time PCR. The expression levels of hippocampal glial fibrillary acidic protein (GFAP) and ionized calcium-binding adaptor molecule-1 (Iba-1) were detected with Western blot. The remained hippocampal tissue was collected for immuno-histochemistry. **Results:** MWM tests showed that the escape latency and swimming distance in operation group was longer than that of sham and minocycline groups ( $P < 0.05$ ). The relative expression of TNF- $\alpha$  mRNA of operation group was significantly higher than sham and minocycline groups ( $P < 0.05$ ), and the expression of TNF- $\alpha$  mRNA of

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助(81270429)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: huangyahui33@hotmail.com

minocycline group was less than operation group ( $P < 0.05$ ). The expression of IL-6 mRNA in operation and minocycline group was significantly higher than that in sham group ( $P < 0.001$ ), and the expression of IL-6 mRNA in minocycline groups was markedly less than that of operation group ( $P < 0.001$ ). Compared with sham group, the expression of GFAP in operation and minocycline group was higher ( $P < 0.001$ ), and the expression level of GFAP in minocycline group was less than that in operation groups ( $P < 0.001$ ). There was no significant difference in Iba-1 expression among the three groups ( $P > 0.05$ ). The changes of astrocytes in hippocampal tissue immunohistochemistry were consistent with the changes of GFAP. **Conclusion:** The activation of astrocytes in the hippocampus was likely to contribute to long-term decline of learning and memory ability in aged mice undergone partial hepatectomy. Minocycline can improve postoperative spatial learning and memory ability by decreasing the expression levels of TNF- $\alpha$  and IL-6 mRNA and inhibiting astrocyte activation.

[Key words] astrocytes; minocycline; postoperative cognitive dysfunction; neuroinflammation

[Acta Univ Med Nanjing, 2014, 34(05):597-602]

术后认知功能障碍(postoperative cognitive dysfunction, POCD)是患者麻醉手术后出现的中枢神经系统并发症之一,尤其在老年患者中有较高的发生率<sup>[1]</sup>。POCD的主要表现是记忆力和注意力损害及精神异常,常持续数周至数月,甚至发生永久性认知功能障碍,导致患者术后康复延迟,病死率上升,医疗费用增加,对家庭及社会造成严重的经济和社会负担<sup>[2]</sup>。目前POCD发病机制尚未完全清楚,中远期POCD将影响他们的生存质量。

星形胶质细胞(astrocyte)被证明对认知功能的形成与发展至关重要<sup>[3]</sup>。此外,星形胶质细胞的激活与慢性脑低灌注导致的认知功能障碍有关<sup>[4]</sup>。米诺环素(minocycline)是一种极易通过血脑屏障的四环素衍生物,已被证明其通过抑制星形胶质细胞增生,在血管性认知功能障碍大鼠模型中具有长期的中枢保护作用,并表现出对老年患者术后认知能力下降的预防和治疗的潜力<sup>[5]</sup>。有文献支持POCD发生的炎症学说<sup>[6]</sup>。

本课题组长期致力于POCD的研究,以C57BL/6老年小鼠做为研究对象,引入70%肝切除手术制作远期POCD模型,造模成功。在既往的研究中发现大鼠早期POCD的发生与中枢炎性因子的增多和小胶质细胞的活化有关<sup>[7]</sup>,已有的文献也证实,术后早期认知功能障碍与小胶质细胞的激活和IL-1 $\beta$ 的增多有密切关系<sup>[8]</sup>。在中枢系统中,小胶质细胞是快反应细胞,而星形胶质细胞是慢反应细胞,因此本文拟对星形胶质细胞与远期术后认知功能障碍的关系以及米诺环素对星形胶质细胞的作用进行探讨。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

SPF级19月龄C57BL/6雄性小鼠(南京军区总医院动物研究中心);米诺环素(货号:M9511,惠氏制药有限公司,苏州);戊巴比妥钠(Sigma公司,美国);PBS缓冲液(pH7.4,武汉博士德生物工程有限公司);TRIzol Agent(Invitrogen公司,美国);逆转录试剂盒(Roche公司,瑞士);实时荧光定量PCR所用试剂SYBR Green Master(Roche公司,瑞士);抗小鼠胶质纤维酸性蛋白(GFAP)抗体(Sigma公司,美国);抗小鼠离子钙接头蛋白(Iba-1)抗体(Santa Cruz公司,美国);辣根过氧化物酶标记的抗小鼠抗体(Pierce公司,美国);Morris水迷宫(上海吉量软件公司);ABI7500实时定量PCR仪(Applied Biosystem公司,美国);冰冻切片机(OCT Compound, Leica, 德国)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 实验方案

所有动物随机分为3组,每组15只,假手术组小鼠仅接受皮肤切开术;手术组小鼠行70%肝切除手术;米诺环素组小鼠接受70%肝切除手术后即刻给予腹腔注射米诺环素45 mg/kg,每天1次,连续30 d;假手术组和手术组小鼠腹腔同时注射相同体积的生理盐水;所有小鼠在术前均接受50 mg/kg戊巴比妥钠腹腔注射麻醉。

#### 1.2.2 动物模型的建立

小鼠自由摄食饮水,环境温度控制在(24 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C,相对湿度50%左右。昼夜比例12 h:12 h。70%肝切除手术模型的建立按照既往的文献所述<sup>[9]</sup>,腹部正中切口,显露肝脏;结扎肝左外叶;剪开镰状韧带至下腔静脉前方。棉签抬起左外叶,剪开肝胃韧带和部分左侧冠状韧带,游离左外叶。取1号线置于肝脏脏面,绕过左外叶,在肝脏膈面靠近根部结扎,剪下左外叶;结扎肝左中叶和右中叶;同时抬起肝左中

叶和右中叶,1号线从脏面绕过,靠近膈面根部结扎,剪下,完成70%肝切除术;关腹:检查无出血后,0号线分别缝合肌层和皮肤。放入温暖房间,复苏。整个手术过程,小鼠体温保持在 $(37.0 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 。

### 1.2.3 Morris水迷宫(MWM)检测

小鼠的空间学习记忆能力测试采用Morris水迷宫试验。术后第31~35天分别观察受试小鼠空间学习和记忆能力,确定术后认知功能的变化。水迷宫为直径100 cm、高30 cm的圆形水池,水深25 cm,水温保持在 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ ,水中加适量二氧化钛粉末,使水浑浊。池壁上标有东南西北4个入水点,将水池等分为4个象限,水池第一象限正中处放一个直径为10 cm、低于水平面0.5 cm的透明圆形平台。迷宫上方安置带有显示系统的摄像机,用以同步记录小鼠运动轨迹。训练期间迷宫外参照物保持不变,以供小鼠定位平台。训练时将动物面朝池壁轻轻放入水中,记录鼠从入水至找到平台的游泳路线的长度(游泳距离)及找到平台的时间(逃避潜伏期)。如果90 s内找不到平台,潜伏期记为90 s,并将鼠置于平台上休息30 s。训练结束后,将鼠置于笼中,并注意保暖、用电取暖器烘干鼠毛。每天在4个入水点各训练1次,以4次潜伏期的算术均值作为当日的成绩进行统计分析。连续测量5 d,每天4次,每次训练间隔5 min。

### 1.2.4 组织总RNA抽提

将取出的部分海马组织加入400  $\mu\text{l}$  TRIzol Agent,置于去核酸酶处理的2 ml离心管中,超声破碎组织,将组织匀浆转入去核酸处理的1.5 ml离心管中,静置室温3 min,按试剂盒方法进行组织总RNA抽提。

### 1.2.5 RT-PCR

用TRIzol Agent从海马组织中提取总RNA及cDNA逆转录。TNF- $\alpha$ 上游引物序列为:5'-CTGTGAAGGAATGGGTGTT-3',下游引物序列为:5'-CAGGAAGA ATCTGGAAAGGTC-3';IL-6上游引物序列为:5'-TAGTCCTTCTACCCCAATT TC-3',下游引物序列为:5'-TTGGTCCTTAGCCACTCCTTC-3';磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)上游引物序列为:5'-TGACCTCAACTACATGGTCTACA-3',下游引物序列为:5'-CTTCCCATTCTCGGCCTTG-3'。按试剂盒说明书严格操作,Real-time PCR反应体系为25  $\mu\text{l}$ ,包括:SYBR-Green 12.5  $\mu\text{l}$ ,上、下游引物各0.75  $\mu\text{l}$ ,cDNA 2  $\mu\text{l}$ ,无RNase水9  $\mu\text{l}$ 。反应条件:预变性,94 $^\circ\text{C}$ ,5 min;变性,94 $^\circ\text{C}$ ,30 s;退火,54 $^\circ\text{C}$ ,30 s;延伸,

72 $^\circ\text{C}$ ,1 min,共30个循环;末次延伸72 $^\circ\text{C}$ ,3 min。

### 1.2.6 Western blot

取下的海马组织用缓冲液H均质化后,样本进行10%SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳。将蛋白转移至硝酸纤维素滤膜,加入一抗辣根过氧化物酶标记的抗小鼠抗体(1:10 000)孵育,再加入二抗抗小鼠GFAP抗体(1:10,000)或抗小鼠Iba-1抗体(1:20 000)4 $^\circ\text{C}$ 封闭过夜。使用可视化印迹化学发光试剂盒,应用ChemiDoc™ XRS+成像系统(Bio-Rad)进行结果检测。

### 1.2.7 小鼠海马星形胶质细胞免疫组化

取小鼠海马组织,用PBS冲洗后,放入4%多聚甲醛磷酸盐缓冲液内固定12 h,经脱水、透明,浸入石蜡包埋,冰冻切片机降温至-20 $^\circ\text{C}$ ,固定好包埋的小鼠海马组织,切片,厚度10  $\mu\text{m}$ ;加入一抗稀释液抗GFAP抗体(1:400),完全覆盖脑组织切片,放入湿盒内,置于4 $^\circ\text{C}$ 冰箱过夜;取出载玻片,室温复温60 min,1xPBS冲洗3次,每次5 min;参照山羊超敏二步法免疫组化试剂盒进行后续的步骤;DAB显色,显微镜成像系统拍照,照片用平均光密度进行分析(Image-Pro Plus 6.0)。

### 1.3 统计学方法

采用SPSS17.0统计学软件进行分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用单因素方差分析(ANOVA),组内比较采用重复测量设计的方差分析。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

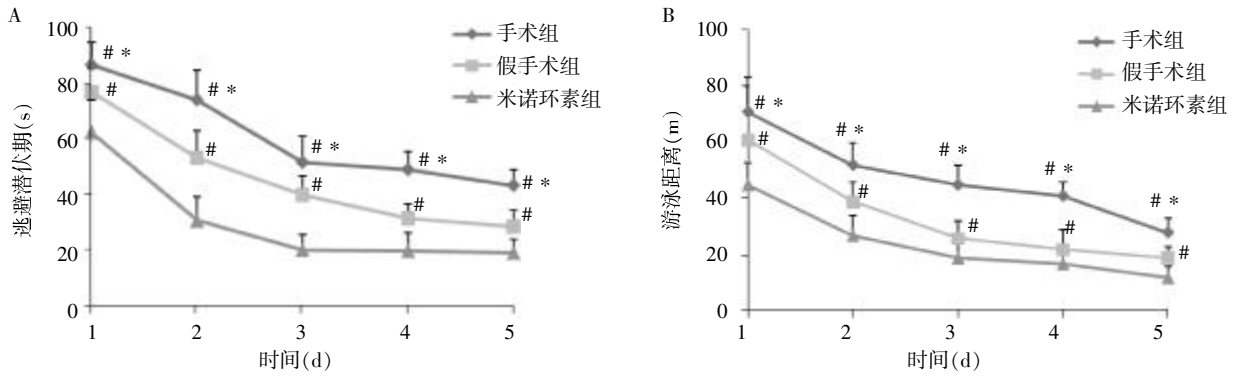
## 2 结果

### 2.1 米诺环素对Morris水迷宫测试成绩的影响

MWM试验广泛用于评估实验动物术后认知能力。通过逃避潜伏期和游泳距离评估小鼠术后空间学习和记忆能力(图1)。单因素方差分析发现,与假手术组比较,手术组逃避潜伏期显著延长,但是经米诺环素治疗后,可显著减弱这一变化( $P < 0.001$ ,图1A)。另外,手术组小鼠的游泳距离显著长于假手术组,而米诺环素可以改善这一结果( $P < 0.001$ ,图1B)。

### 2.2 米诺环素对海马组织中炎症因子表达情况的影响

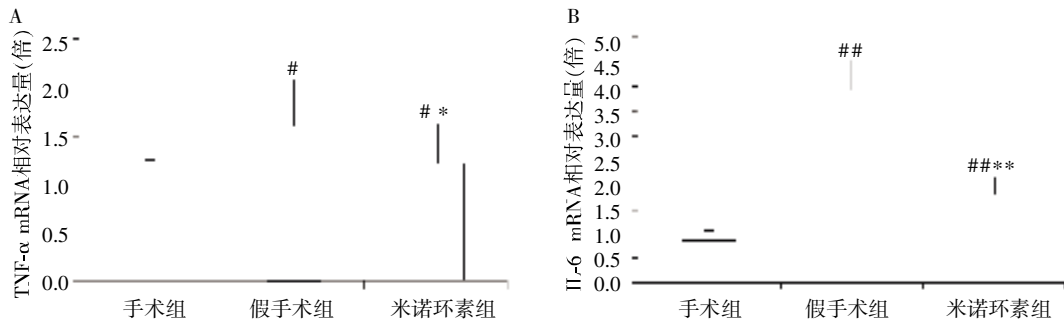
RT-PCR实验表明:与假手术比较,手术组小鼠海马组织中TNF- $\alpha$ 和IL-6 mRNA的相对表达量明显升高( $P < 0.01$ ,图2A; $P < 0.001$ ,图2B);但是经米诺环素干预治疗后,可以显著减少这两种中枢炎症因子在海马中的表达( $P < 0.05$ ,图2A; $P < 0.001$ ,图2B)。



与米诺环素组比较,  $^{\#}P < 0.001$ ; 与假手术组比较,  $^*P < 0.05$ 。

图 1 各组小鼠 Morris 水迷宫测试成绩

Figure 1 The MWM testing score



与假手术组比较,  $^{\#}P < 0.01$ ,  $^{\#\#}P < 0.001$ ; 与手术组比较,  $^*P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.001$ 。

图 2 各组小鼠海马组织中炎症因子 TNF-α 和 IL-6 mRNA 相对表达量的分析(RT-PCR)

Figure 2 The TNF-α and IL-6 mRNA mRNA relative expression levels of inflammatory cytokines in the hippocampus using a real-time PCR

### 2.3 米诺环素对海马星形胶质细胞的影响

为了探索与部分肝切除相关的星形胶质细胞的变化以及米诺环素的作用,使用以下 2 种方法检测米诺环素对海马星形胶质细胞的影响。

#### 2.3.1 Western blot 检测海马组织中星形胶质细胞标记物(GFAP)和小胶质细胞标记物(Iba-1)的变化

Western blot 实验表明,手术组小鼠海马组织 GFAP 的表达与其他 2 组比较显著升高,米诺环素可以显著减少这一变化( $P < 0.001$ ,图 3A);3 组之间 Iba-1 的表达无统计学意义( $P > 0.05$ ,图 3B)。

#### 2.3.2 小鼠海马组织免疫组织化学法

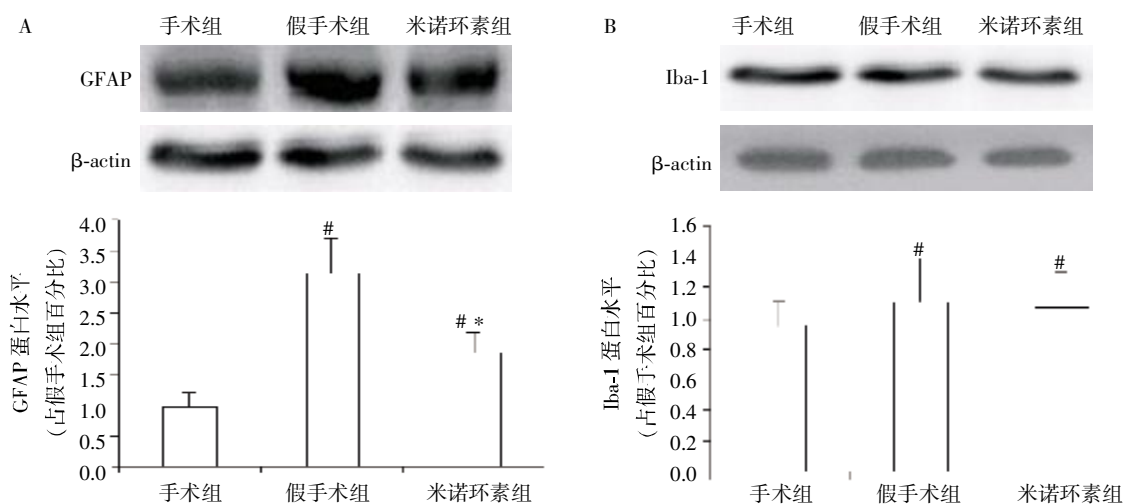
由于手术或炎症因子的刺激,与其他两组比较(图 4),手术组小鼠海马组织中星形胶质细胞的数量明显增多( $P < 0.001$ ,图 4B),与手术组比较,米诺环素可以显著抑制星形胶质细胞的增生( $P < 0.001$ ,图 4C)。

## 3 讨论

米诺环素(minocycline)具有高度亲脂性和组织

穿透力,能有效透过血脑屏障,在脑脊液和脑组织中的浓度比其他四环素类为高。基于米诺环素的药代动力学及既往的研究,使用米诺环素 45 mg/(kg·d)对实验小鼠腹腔注射,可以在中枢神经系统内达到有效的血药浓度,具有明显的长期神经保护作用<sup>[10]</sup>。一些证据表明,米诺环素具有抗炎和神经保护的特性,可通过抑制星形胶质细胞增生促进脑缺血及阿尔茨海默病(Alzheimer's disease)患者的认知功能恢复<sup>[5,11]</sup>。米诺环素也可以改善创伤性脑损伤认知功能障碍患者的认知和记忆能力,另外,米诺环素可用于治疗老年患者术后认知功能障碍,改善症状<sup>[12]</sup>。但米诺环素在远期 POCD 中是否同样发挥作用,却缺乏相关的报道,这也是本研究的目的所在。

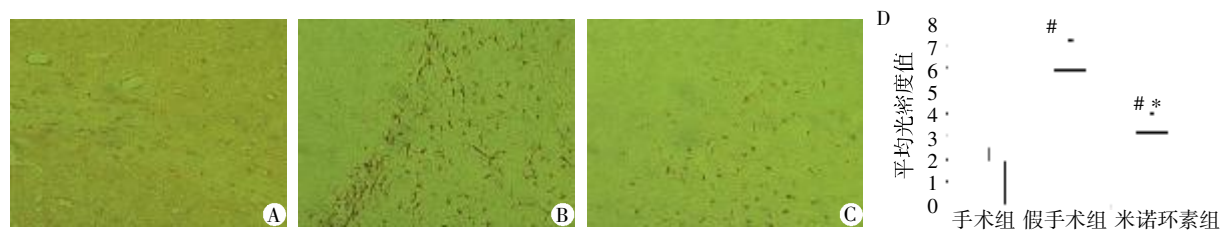
Morris 水迷宫广泛用于啮齿类动物的视觉相关的空间学习和记忆的测量中,是目前研究啮齿类动物认知功能公认的试验方法<sup>[13]</sup>。海马(Hippocampus)是大脑中的重要组成部分,在空间定位、学习和记忆(尤其是短时记忆)中扮演重要角色,已有的研究认为 POCD 与海马的病理生理改变密切相关<sup>[14]</sup>,故本



与假手术组比较,  $^{\#}P < 0.001$ ; 与手术组比较,  $^{*}P < 0.001$ 。

图 3 各组小鼠海马组织 GFAP 和 Iba-1 的表达分析(Western blot)

Figure 3 The expression of GFAP and Iba-1 measured using Western blot



A:假手术组;B:手术组;C:米诺环素组;D:各组小鼠海马组织中星形胶质细胞平均光密度值的变化比较。与假手术组比较,  $^{\#}P < 0.001$ ;与手术组比较,  $^{*}P < 0.05$ 。

图 4 各组小鼠海马组织中星形胶质细胞的免疫组织化学分析

Figure 4 The activation of hippocampal astrocytes detected by immunohisto-chemistry

研究选择海马组织作为观察对象行相关实验室指标的检测。

星形胶质细胞(astrocyte, AS)是数量上占绝对优势的一类大胶质细胞,是哺乳动物中枢神经系统内分布最广泛的一类细胞,约占 20%左右。有学者认为,星形胶质细胞是突触的功能岛,是中枢神经系统整合信息的集线器<sup>[3,15]</sup>。胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)是星形胶质细胞的重要标记物,与星形胶质细胞的活化成平行变化,脑损伤后,星形胶质细胞的数目、形态和功能发生动态变化,可作为推断损伤时间的标志之一<sup>[16]</sup>。小胶质细胞(microglia)主要在小手术后的初始阶段激活<sup>[17]</sup>,而在大鼠双侧颈总动脉结扎手术模型中,星形胶质细胞在终末期持续激活<sup>[4]</sup>。由于星形胶质细胞的功能影响认知和记忆能力,因此本实验检测海马组织中星形胶质细胞的数量以及 GFAP 的表达水平。本实验结果显示,在术后第 35 天米诺环素抑制星形胶质细胞的增生,下调 GFAP 的表达,提示米诺环素抑

制海马组织中星形胶质细胞的活化。此外,GFAP 的表达降低与 MWM 成绩改善有关。因此,这些数据表明,米诺环素可能通过抑制星形胶质细胞的活化改善 70%肝切除老年小鼠术后远期学习和记忆能力。

目前,POCD 的分子机制仍不清楚,但是手术和高龄仍然是 POCD 的最重要的危险因素<sup>[18]</sup>。中枢炎症反应在 POCD 的发病机制中扮演重要角色,这些炎症细胞因子包括 TNF- $\alpha$  和 IL-6<sup>[7,17]</sup>。手术引起的神经胶质细胞激活触发认知能力下降与海马炎症反应密切相关<sup>[19]</sup>。海马组织 TNF- $\alpha$  和 IL-6 表达水平的升高与神经元可塑性的损害有关,从而抑制长时程增强(LTP),尤其是前者与学习和记忆能力有关<sup>[20]</sup>。另外,有报道,老年患者血清中 IL-6 水平的高低与术后认知功能的程度呈负相关,并推测 IL-6 可作为老年患者术后认知功能障碍的预测指标<sup>[21]</sup>。本研究显示,部分肝切除术后小鼠海马组织 TNF- $\alpha$  和 IL-6 mRNA 表达水平升高,而米诺环素可以显著降低这一改变,因此术后 POCD 的发生可能与促炎细

胞因子的增高有关。

本研究不仅初步探讨了远期术后认知功能障碍与中枢炎性反应的关系,且证明了星形胶质细胞的激活可能与远期认知功能障碍有关,并采用米诺环素进行干预,取得了一定的效果。但是POCD的潜在具体机制仍有待进一步阐明。

#### [参考文献]

- [1] Papadopoulos G, Karanikolas M, Liarmakopoulou A, et al. Cerebral oximetry and cognitive dysfunction in elderly patients undergoing surgery for hip fractures: a prospective observational study[J]. *Open Orthop J*, 2012, 6: 400-405
- [2] Steinmetz J, Christensen KB, Lund T, et al. ISPOCD Group. Long-term consequences of postoperative cognitive dysfunction[J]. *Anesthesiology*, 2009, 110(3): 548-555
- [3] Pereira A Jr, Furlan FA. Astrocytes and human cognition: modeling information integration and modulation of neuronal activity[J]. *Prog Neurobiol*, 2010, 92(3): 405-420
- [4] Zhang GL, Deng JP, Wang BH, et al. Gypenosides improve cognitive impairment induced by chronic cerebral hypoperfusion in rats by suppressing oxidative stress and astrocytic activation[J]. *Behav Pharmacol*, 2011, 22(7): 633-644
- [5] Hunter CL, Quintero EM, Gilstrap L, et al. Minocycline protects basal forebrain cholinergic neurons from mu p75-saporin immunotoxic lesioning [J]. *Eur J Neurosci*, 2004, 19(12): 3305-3316
- [6] Fan L, Wang TL, Xu YC, et al. Minocycline may be useful to prevent/treat postoperative cognitive decline in elderly patients [J]. *Med Hypotheses*, 2011, 76 (5): 733-736
- [7] Zhao L, Wang F, Gui B, et al. Prophylactic lithium alleviates postoperative cognition impairment by phosphorylating hippocampal glycogen synthase kinase-3 $\beta$  (Ser9) in aged rats[J]. *Exp Gerontol*, 2011, 46(12): 1031-1036
- [8] Wu X, Lu Y, Dong Y. The inhalation anesthetic isoflurane increases levels of proinflammatory TNF-alpha, IL-6, and IL-1beta[J]. *Neurobiol Aging*, 2012, 33(7): 1364-1378
- [9] Mitchell C, Willenbring H. A reproducible and well-tolerated method for 2/3 partial hepatectomy in mice[J]. *Nature Protocols*, 2008, 7(3): 798-806
- [10] Hewlett KA, Corbett D. Delayed minocycline treatment reduces long-term functional deficits and histological injury in a rodent model of focal ischemia [J]. *Neuroscience*, 2006, 141(1): 27-33
- [11] Choi Y, Kim HS, Shin KY, et al. Minocycline attenuates neuronal cell death and improves cognitive impairment in Alzheimer's disease models [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2007, 32(11): 2393-2404
- [12] Siopi E, Llufriu-Dabe'n G, Fanucchi F, et al. Evaluation of late cognitive impairment and anxiety states following traumatic brain injury in mice: the effect of minocycline[J]. *Neurosci Lett*, 2012, 511(2): 110-115
- [13] Gordan ML, Jungwirth B, Ohl F, et al. Evaluation of neurobehavioral deficits following different severities of cerebral ischemia in rats: a comparison between the modified hole board test and the Morris water maze test [J]. *Behav Brain Res*, 2012, 235(1): 7-20
- [14] Cann C, Wilkes AR, Hall JE, et al. Are we using our brains? Diagnosis of postoperative cognitive dysfunction [J]. *Anaesthesia*, 2010, 65(12): 1166-1169
- [15] Halassa MM, Fellin T, Takano H, et al. Synaptic islands defined by the territory of a single astrocyte [J]. *J Neurosci*, 2007, 27(24): 6473-6477
- [16] 孙纁利, 虞燕琴. 星形胶质细胞在中枢感觉信息处理中的作用[J]. *浙江大学学报: 医学版*, 2011, 40(6): 673-679
- [17] Rosczyk HA, Sparkman NL, Johnson RW. Neuroinflammation and cognitive function in aged mice following minor surgery[J]. *Exp Gerontol*, 2008, 43(9): 840-846
- [18] 陈宇, 蒋金娣, 沙欢欢, 等. 心脏瓣膜置换术中乌司他丁的应用对炎症相关因子与术后认知功能的影响[J]. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2012, 32(1): 86-89
- [19] Wan Y, Xu J, Ma D, et al. Postoperative impairment of cognitive function in rats: a possible role for cytokine-mediated inflammation in the hippocampus[J]. *Anesthesiology*, 2007, 106(3): 436-443
- [20] Pickering M, O'Connor JJ. Pro-inflammatory cytokines and their effects in the dentate gyrus [J]. *Prog Brain Res*, 2007, 163: 339-354
- [21] Vereyken EJ, Bajova H, Chow SG, et al. Chronic interleukin-6 alters the level of synaptic proteins in hippocampus in culture and in vivo [J]. *Eur J Neurosci*, 2007, 25 (12): 3605-3616

[收稿日期] 2013-12-13