

## 甲基苯丙胺对大鼠小胶质细胞的损伤及炎症相关基因表达的影响

程洁<sup>1</sup>, 蒋雷<sup>2</sup>, 环飞<sup>1</sup>, 黄雨蒙<sup>1</sup>, 王军<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>南京医科大学公共卫生学院卫生毒理学系, 江苏 南京 211166; <sup>2</sup>南京医科大学第一附属医院急诊医学中心, 江苏 南京 210029)

**[摘要]** 目的: 观察甲基苯丙胺(methamphetamine, Meth)对原代小胶质细胞的损伤及炎症相关基因表达的影响。方法: 原代培养 SD 胎鼠小胶质细胞, 利用 MTT 和原位末端转移酶标记技术(TUNEL)分别检测 Meth 引起小胶质细胞活力和凋亡的变化。采用实时荧光定量聚合酶链反应法(real-time PCR)观察 Meth 对小胶质细胞炎症相关因子 mRNA 表达的影响。ELISA 及试剂盒法检测 Meth 作用后小胶质细胞白介素(interleukin, IL)-6、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- $\alpha$ 、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)的分泌改变。结果: MTT 实验显示, Meth 降低小胶质细胞活力, 呈浓度依赖性, 浓度为 200  $\mu\text{mol/L}$  时与对照组比较, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。TUNEL 实验结果显示 200  $\mu\text{mol/L}$  Meth 可引起细胞凋亡, 与对照组比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。q-PCR 结果显示 Meth 作用于小胶质细胞 24 h 可降低 IL-24、一氧化氮合酶 3(nitric oxide synthase 3, NOS3)表达水平, 上调 Peli3、Sigma 受体 1(Sigma receptor 1, Sig1-R)、IL-1 $\beta$ 、IL-6、Toll 样受体 4(Toll like receptor 4, TLR4)的表达水平, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。此外, 蛋白水平亦发现, Meth 可促进 IL-6 和 TNF- $\alpha$  的分泌。结论: Meth 可降低小胶质细胞活力, 诱导小胶质细胞凋亡, 并引起 IL-1 $\beta$ 、IL-1R、IL-6、TLR4 等炎症因子 mRNA 表达变化, 促进 IL-6 和 TNF- $\alpha$  的分泌, 进而可能损伤中枢神经系统, 产生神经毒性。

**[关键词]** 甲基苯丙胺; 小胶质细胞; 炎症因子

**[中图分类号]** R114

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2017)09-1131-05

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20170912

## Damage of cells and effects of inflammatory related genes induced by methamphetamine in rat microglial cells

Cheng Jie<sup>1</sup>, Jiang Lei<sup>2</sup>, Huan Fei<sup>1</sup>, Huang Yumeng<sup>1</sup>, Wang Jun<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Department of Toxicology, School of Public Health, NJMU, Nanjing 211166; <sup>2</sup>Department of Emergency Medicine, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the effects of cell injury and the expression of inflammation related genes in rat microglial cells induced by methamphetamine(Meth). **Methods:** Cell viability and apoptosis induced by Meth were detected by MTT and in situ end labeling(TUNEL) after primary culture of SD fetal rat microglial cells. The effect of Meth on the expression of inflammatory cytokines mRNA in the microglial cells was evaluated by real time fluorescence quantitative polymerase chain reaction(real-time PCR). The secretion of interleukin(IL)-6, tumor necrosis factor(TNF)- $\alpha$  and inducible nitric oxide synthase(iNOS)in microglia cells induced by Meth were detected by ELISA method. **Results:** MTT showed that Meth reduced microglia viability in a concentration dependent manner (25, 50, 100, and 200  $\mu\text{mol/L}$ ) with statistically significant at a concentration of 200  $\mu\text{mol/L}$  ( $P < 0.05$ ). TUNEL results showed that 200  $\mu\text{mol/L}$  Meth significantly contributed to cell apoptosis compared with the control group( $P < 0.05$ ). Q-PCR results showed that Meth reduced the expression levels of IL-24 and nitric oxide synthase 3(NOS3) in microglial cells for 24 hours. However, the expression levels of Peli3, Sigma receptor 1(sig1)-R, IL-1, IL-6 and Toll like receptor 4(TLR4) were up-regulated. In addition, protein levels were also confirmed that Meth promoted the secretion of IL-6 and TNF- $\alpha$ . **Conclusion:** Meth exposure obviously contributes to microglial damage. Moreover, it causes IL-1 $\beta$ , IL-1R, IL-6, TLR4 and other inflammatory factors mRNA expression changes, and promotes the secretion of IL-6 and TNF- $\alpha$ , which may damage the central nervous system, resulting in neurotoxicity.

**[Key words]** methamphetamine; microglial cells; inflammatory factor

[Acta Univ Med Nanjing, 2017, 37(09): 1131-1135, 1181]

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81673213, 81202230); 江苏省自然科学基金(BK20151557); 江苏高校优势学科建设工程资助项目

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: wangjun@njmu.edu.cn

甲基苯丙胺(methamphetamine, Meth), 俗称“冰毒”, 近年来其滥用呈上升趋势, 联合国禁毒与犯罪事务办公室(UNODC)2012年报告指出, 在全球非法使用者中, Meth因其易得、易制等特点成为仅次于大麻且危害最为严重和广泛的毒品<sup>[1-2]</sup>, 对社会稳定造成极大危害<sup>[1,3]</sup>。研究表明, Meth对神经元具有直接损伤作用, 机制主要涉及氧化应激、兴奋性毒性及炎症反应<sup>[4]</sup>。动物实验和临床资料表明, 长期低剂量持续摄入可造成慢性毒性, 产生明显的精神和行为改变, 如亢奋、易激惹、精神运动功能障碍等<sup>[4-6]</sup>。此外, Meth具有脂溶性, 可透过血脑屏障<sup>[7]</sup>, 选择性作用于脑干以上的中枢神经系统, 产生中枢神经系统毒性<sup>[8-9]</sup>。

小胶质细胞(microglia, MG)占胶质细胞总数的10%<sup>[10]</sup>, 是中枢神经系统内一类固有免疫效应细胞, 对神经元起支持、保护和营养作用<sup>[11]</sup>。生理条件下, MG分泌释放的神经营养因子、转化生长因子维持神经元的存活并促进其生长分化。但中枢神经系统受损时, 病灶区及周围MG反应性激活, 分泌大量细胞因子, 如白介素(interleukin, IL)-1 $\beta$ 、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- $\alpha$ 、一氧化氮(nitric oxide, NO)等<sup>[12]</sup>, 参与中枢继发性损伤的病理过程<sup>[13]</sup>。

目前, Meth对MG的毒性作用机制仍不清楚。因而本研究拟以MG为研究对象, 观察Meth对MG的损伤及炎性作用, 并探索炎性反应上游相关关键基因的表达改变, 旨在为Meth引起的神经毒性提供理论基础和可能的干预手段。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

孕18 d的SPF级SD大鼠(南京医科大学实验动物中心); Meth(中国食品药品检定研究所, 标准品编号: 171212, 20 mg, 纯度99.9%); HBSS(Gibco公司, 美国), 2.5%胰蛋白酶溶液、DMEM高糖培养基(不含丙酮酸钠)、胎牛血清(南美源系)、青霉素/链霉素溶液(Hyclone公司, 美国); Alexa Fluor-594(Invitrogen公司, 美国), 多聚赖氨酸、DNase I、台盼蓝、MTT、DMSO(Sigma公司, 美国); VECTASHIELD<sup>®</sup> with DAPI(Vector公司, 美国), 多聚甲醛、枸橼酸钠、Triton X-100(上海国药); TUNEL试剂盒(Roche公司, 美国), TNF- $\alpha$ 和IL-6 ELISA试剂盒(R&D公司, 美国), 诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)活性试剂盒(南京建成生物有限公司)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 MG的分离、纯化、培养及鉴定

MG分离: 取孕18 d SD大鼠, 麻醉后取胎鼠, 分离大脑半球皮质, 胰酶消化, 吹打使其充分分离, 依次经100  $\mu$ m和40  $\mu$ m网筛过滤, 培养液吹打成细胞悬浮液, 计数后接种于培养瓶中。MG纯化培养: 接种4 d后半量更换培养液, 每隔3 d换1次培养液。MG培养至第14天左右, 置于37  $^{\circ}$ C摇床260 r/min震荡2 h, 直到培养瓶底面上的光亮有立体感的细胞基本摇下, 悬浮在液体中, 收集悬浮细胞, 培养2~3 d。采用免疫荧光方法对分离出的原代MG进行标记鉴定。

#### 1.2.2 MG的活力测试实验(MTT实验)

取生长良好的MG接种于48孔板, 每孔100  $\mu$ L, 约 $5 \times 10^4$ 个细胞。实验组分别加入不同浓度的Meth(10、30、100、200  $\mu$ mol/L), 对照组加入等体积培养液, 每组设5个复孔。细胞与Meth孵育24 h后, 加入5 mg/mL MTT溶液20  $\mu$ L, 37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub>条件下孵育3 h。加入二甲基亚砜(DMSO)使甲瓚结晶完全溶解, 于酶标仪上测定490 nm波长处的吸光度值。实验重复3次。

#### 1.2.3 原位末端转移酶标记技术(TUNEL)检测细胞凋亡

200  $\mu$ mol/L Meth与MG共孵24 h后, 用4%多聚甲醛固定60 min, 清洗3次后, 用0.2% Triton X-100处理20 min, 清洗3次后加入TUNEL反应液, 避光, 放入细胞培养箱(37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub>)孵育2 h后, 清洗, 加入VECTASHIELD<sup>®</sup> with DAPI。荧光显微镜下, 记录DAPI标记的蓝色细胞数和TUNEL标记的绿色细胞数, 计算细胞凋亡率(%)=TUNEL绿染细胞/DAPI蓝染细胞 $\times 100\%$ 。

#### 1.2.4 mRNA的提取、逆转录及表达水平检测

去培养液, 用PBS洗细胞2次, 加入1 mL TRIzol, 充分裂解后, 4  $^{\circ}$ C 10 000 r/min离心15 min, 按试剂盒步骤进行细胞总RNA提取。逆转录试剂盒逆转录生成cDNA, 进行real-time PCR反应(ABI 7900), 每个样品5个复孔, 实验重复3次,  $\beta$ -actin作为内参, 基因的相对定量采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法。检测IL-1 $\beta$ 、IL-1R、IL-4、IL-10、IL-15、IL-24、IL-6、iNOS、一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)I/3、Peli1、Peli2、Peli3、Sigma受体1(Sigma receptor 1, Sig1-R)、TNF- $\alpha$ 、Toll样受体4(Toll like receptor 4, TLR4)mRNA表达水平的变化。

#### 1.2.5 ELISA法检测炎症因子的分泌

每孔加入待测样品100  $\mu$ L, 37  $^{\circ}$ C条件下孵育

120 min。洗涤后,每孔中加入一抗工作液 50  $\mu\text{L}$ ,混匀后置 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 60 min。洗涤后,每孔加酶标抗体工作液 100  $\mu\text{L}$ ,37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 120 min。洗涤后,每孔加入底物工作液 100  $\mu\text{L}$ ,反应 10 min 后每孔加入 50  $\mu\text{L}$  终止液混匀,酶标仪在 492 nm 处测定吸光值。实验重复 3 次,每次平行 3 样。

### 1.3 统计学方法

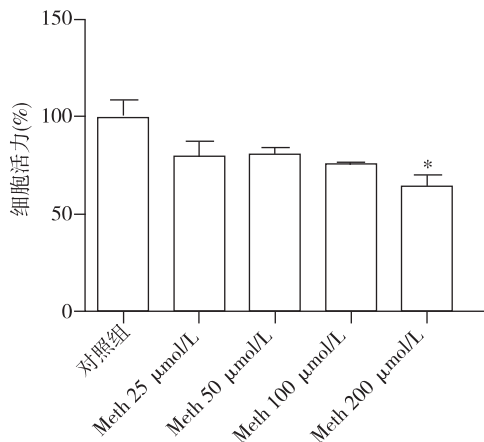
采用 SPSS13.0 及 Graphpad Prism 5 软件对数据进行分析处理,定量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,多组定量资料比较采用单因素方差分析检验,多组间两两比较选用 LSD- $t$  检验或 Dunnett  $t^3$  检验, $P\leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 Meth 对 MG 的损伤作用

MTT 实验显示,不同浓度 Meth 与原代培养的 MG 孵育后,发现随 Meth 浓度的增高,MG 活力逐渐下降,呈现一定剂量依赖性,其中高浓度(200  $\mu\text{mol/L}$ ) Meth 处理组与对照组比较,差异有统计学意义( $P< 0.01$ ,图 1),提示 Meth 对 MG 具有损伤作用。

TUNEL 实验也显示,与对照组比较,200  $\mu\text{mol/L}$  Meth 处理后,MG 凋亡率明显升高( $P< 0.05$ ,图 2)。



与对照组比较,\* $P< 0.01$ ( $n=3$ )。

图 1 MTT 法检测细胞活力

Figure 1 Cell viability with MTT assay

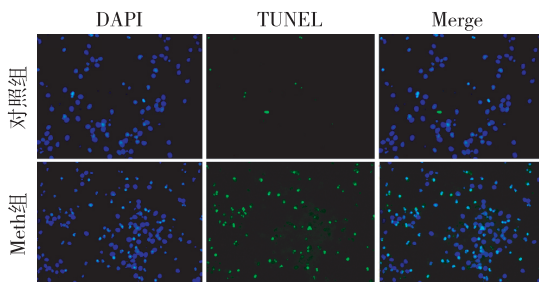


图 2 TUNEL 法检测细胞凋亡( $\times 400$ )

Figure 2 Detection of cell apoptosis with TUNEL assay( $\times 400$ )

### 2.2 Meth 对 MG 炎症相关因子 mRNA 表达的影响

将 200  $\mu\text{mol/L}$  Meth 与 MG 孵育,与对照组比较,Meth 处理组 IL-1 $\beta$ 、IL-1R 分别升高为对照组的 1.45 和 1.35 倍,差异有统计学意义 ( $P< 0.001$ ,图 3A)。此外 Meth 作用后,IL-24 表达显著降低,差异有统计学意义 ( $P< 0.001$ );IL-6 表达升高为对照组的 1.62 倍,差异有统计学意义( $P< 0.001$ );而 IL-4、IL-10 和 IL-15 表达水平未发现明显改变(图 3B)。

200  $\mu\text{mol/L}$  Meth 作用细胞后,NOS3 表达显著降低,差异有统计学意义( $P< 0.001$ );而 iNOS 及 NOS1 表达与对照组比较,差异无统计学意义(图 3C)。

200  $\mu\text{mol/L}$  Meth 作用细胞后,与对照组比较,泛素化连接酶 Peli 家族表达发生改变,Peli3 表达上调,上升为对照组的 1.16 倍,差异有统计学意义( $P< 0.05$ ),Peli1、Peli2 亦一定程度上升,但差异无统计学意义(图 3D)。Sig1-R、TLR4 表达上调,分别上调为对照组的 1.15、2.02 倍,差异有统计学意义( $P< 0.01$ ,图 3E)。

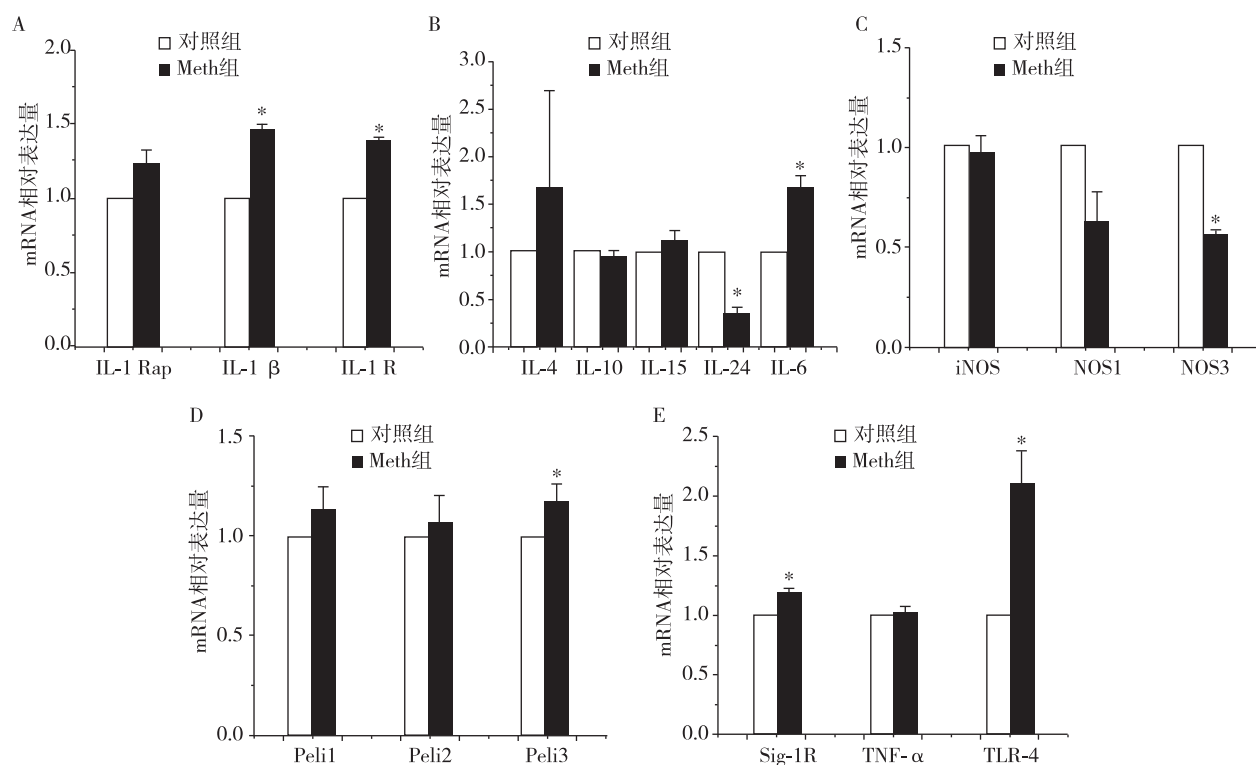
### 2.3 Meth 对炎症因子 IL-6、TNF- $\alpha$ 、iNOS 分泌的影响

利用 ELISA 法,观察 Meth 处理 MG 后,细胞培养液中 IL-6、TNF- $\alpha$  浓度的改变。与对照组比较,200  $\mu\text{mol/L}$  Meth 处理后,细胞培养液中 IL-6、TNF- $\alpha$  的分泌明显增加,差异有统计学意义 ( $P< 0.01$ ),而 iNOS 活性未发现明显改变(图 4)。

## 3 讨论

Meth 对神经系统的损伤是一个多因素多阶段的过程,炎症因子在引起细胞损伤的过程中发挥重要作用,但机制仍然不明。本研究旨在阐述 Meth 对炎症相关基因表达的影响,观察 Meth 对原代 MG 的损伤和凋亡作用。发现 Meth 能浓度依赖性降低 MG 的活力及增加 MG 的凋亡。而该浓度的选择一方面可显著观察到 Meth 引起的细胞炎性及凋亡效应,同时也是 Meth 滥用者血或脑脊液中能检测到的浓度范围。

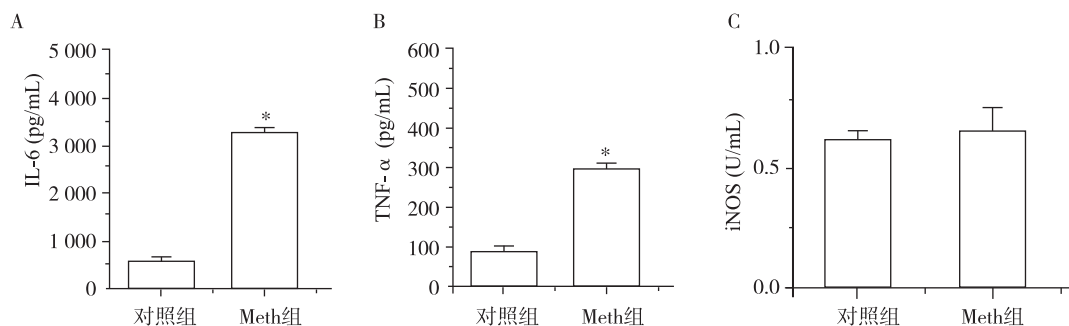
既往研究显示,Meth 分别处理 30 min 和 1 h 后,IL-6 在海马和纹状体的表达水平均明显增加。而在额叶皮质,IL-6 mRNA 表达增加更显著<sup>[14]</sup>。IL-1 $\beta$  是 IL-1 的一种亚型,主要产生于星形胶质细胞、MG、神经元和血管内皮细胞,IL-1 $\beta$  mRNA 表达与炎症程度呈正相关<sup>[15]</sup>。有研究发现,在啮齿类动物中应用转基因技术增加 IL-1 $\beta$  表达可加重兴奋性毒性,降低空间记忆能力<sup>[16]</sup>。本研究利用 Meth 处理 MG 后,发现 MG 活化,自分泌多种炎症因子,如 IL-1、IL-6。这与 Schmidt 等<sup>[17]</sup>研究发现 Meth 促进大



A: Meth 对 IL-1 因子相关基因的影响,  $\beta$ -actin 为内参基因, 与对照组比较,  $^*P < 0.001$ ; B: Meth 对白介素家族其他因子相关基因表达的影响,  $\beta$ -actin 为内参基因, 与对照组比较,  $^*P < 0.001$ ; C: Meth 对 NOS 基因表达的影响,  $\beta$ -actin 为内参基因, 与对照组比较,  $^*P < 0.001$ ; D: Meth 对 Peli 家族相关基因的影响,  $\beta$ -actin 为内参基因, 与对照组比较,  $^*P < 0.05$ ; E: Meth 对其他炎症因子相关基因的影响,  $\beta$ -actin 为内参基因, 与对照组比较,  $^*P < 0.01$ 。

图 3 Meth 对 MG 炎症相关因子 mRNA 表达的影响

Figure 3 Effect of Meth on mRNA expression of inflammatory cytokines in microglia cells



与对照组比较,  $^*P < 0.01$ 。

图 4 Meth 对 IL-6(A)、TNF-α(B)、iNOS(C)分泌的影响

Figure 4 Effect of methamphetamine on IL-6(A), TNF-α(B) and iNOS(C) secretion

脑单核细胞中 IL-1 $\beta$  及其受体 IL-1R 高表达的现象一致。同时也与 Meth 诱导的高热反应导致炎症反应的现象类似, 表现为 IL-1 $\beta$  的表达增多<sup>[18]</sup>。有意思的是, 本研究发现 Meth 处理 MG 后, TNF- $\alpha$  mRNA 表达与分泌情况并不完全一致, 这可能与 Meth 引起炎症转录后修饰相关<sup>[19]</sup>。

Sigma 受体是一种非阿片类受体, 可与 Meth、可卡因等精神类药物结合, 该受体高度表达于脑组织细胞中(神经元、MG、星形胶质细胞)<sup>[20]</sup>。在亚细胞层

面, Sig1-R 广泛定位于内质网、线粒体膜, 在外界因素(内质网应激或 ROS)刺激后, 转位于细胞膜。研究显示, Sig1-R 敲除小鼠表现为多种免疫反应蛋白的上调, 而其受体激动剂 DTG 能显著抑制 MG 的激活, 降低炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6、INF- $\gamma$  的分泌。本研究结果显示 Meth 作用于细胞后, Sig1-R 表达升高, 这可能和细胞接触 Meth 导致的适应性及正反馈途径相关。此外还发现, Meth 作用细胞后, 介导炎症因子上游关键受体 TLR4 表达增高。TLR4 作为一种免

疫识别和反应蛋白,在调节中枢免疫、特异性识别病原微生物抗原分子、MG 激活的过程中发挥关键作用<sup>[21]</sup>。研究显示,阿尔兹海默病 A $\beta$ 1-42 可通过 TLR4 介导 MG 相关炎症反应的产生,表现为 TLR4 表达增多并伴随 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-17、CD11b 等炎症因子的分泌增加<sup>[22]</sup>。而 TLR4 基因敲除小鼠则表现为促炎因子的表达降低,认知功能障碍明显减轻<sup>[23]</sup>。以上证据结合本研究结果提示,Meth 可能会通过上调 TLR4 受体表达进而介导下游炎症反应。

近期研究显示,Peli 连接酶家族可能在 Toll 样信号及下游炎症因子表达的过程中发挥重要作用。本研究结果发现,Peli 家族表达均具有上升趋势,而 Peli3 上升显著,提示 Peli 家族可能在 TLR4 及炎症因子之间起到连接作用,但该结论仍需进一步实验证明。

综上所述,Meth 可导致 MG 的损伤,炎症反应可能是导致细胞损伤的重要原因,后续将围绕上游 TLR4、Peli 家族、Sig-1R,探索这些上游蛋白在 Meth 引起 MG 炎症反应中的作用,因而该研究可为 Meth 的干预提供新靶点,具有重要的理论意义。

#### [参考文献]

- [1] Jan RK, Kydd RR, Russell BR. Functional and structural brain changes associated with methamphetamine abuse [J]. *Brain Sci*, 2012, 2(4):434-482
- [2] Kulsudjarit K. Drug problem in southeast and southwest Asia [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2004, 1025(1):446-457
- [3] Weber E, Morgan EE, Iudicello JE, et al. Substance use is a risk factor for neurocognitive deficits and neuropsychiatric distress in acute and early HIV infection [J]. *J Neurovirol*, 2013, 19(1):65-74
- [4] Huang YN, Wang JY, Lee CT, et al. L-ascorbate attenuates methamphetamine neurotoxicity through enhancing the induction of endogenous heme oxygenase-1 [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2012, 265(2):241-252
- [5] Sawada H, Ibi M, Kihara T, et al. Mechanisms of anti-apoptotic effects of estrogens in nigral dopaminergic neurons [J]. *FASEB J*, 2000, 14(9):1202-1214
- [6] Darke S, Kaye S, Mcketin R, et al. Major physical and psychological harms of methamphetamine use [J]. *Drug Alcohol Rev*, 2008, 27(3):253-262
- [7] Eugenin EA, Greco JM, Frases S, et al. Methamphetamine alters blood brain barrier protein expression in mice, facilitating central nervous system infection by neurotropic *Cryptococcus neoformans* [J]. *J Infect Dis*, 2013, 208(4):699-704
- [8] Kish SJ, Boileau I, Callaghan RC, et al. Brain dopamine neuron "damage": methamphetamine users *vs.* Parkinson's disease: A critical assessment of the evidence [J]. *Eur J Neurosci*, 2017, 45(1):58-66
- [9] Shah A, Kumar A. Methamphetamine-mediated endoplasmic reticulum(ER) stress induces type-I programmed cell death in astrocytes via ATF6, IRE1 $\alpha$  and PERK pathways [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(29):46100-46119
- [10] Greter M, Merad M. Regulation of microglia development and homeostasis [J]. *Glia*, 2013, 61(1):121-127
- [11] Guglielmetti C, Le Blon D, Santermans EA, et al. Interleukin-13 immune gene therapy prevents CNS inflammation and demyelination via alternative activation of microglia and macrophages [J]. *Glia*, 2016, 64 (12):2181-2200
- [12] Weng L, Zhang H, Li X, et al. Ampelopsin attenuates lipopolysaccharide-induced inflammatory response through the inhibition of the NF- $\kappa$ B and JAK2/STAT3 signaling pathways in microglia [J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 44:1-8
- [13] Li Y, Yang W, Quinones-Hinojosa A, et al. Interference with protease-activated receptor 1 alleviates neuronal cell death induced by lipopolysaccharide-stimulated microglial cells through the PI3K/Akt pathway [J]. *Sci Rep*, 2016, 6:38247
- [14] Gonçalves J, Martins T, Ferreira R, et al. Methamphetamine-induced early increase of IL-6 and TNF- $\alpha$  mRNA expression in the mouse brain [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2008, 1139:103-111
- [15] Hoda U, Agarwal NB, Vohora D, et al. Resveratrol suppressed seizures by attenuating IL-1 $\beta$ , IL1-Ra, IL-6, and TNF- $\alpha$  in the hippocampus and cortex of kindled mice [J]. *Nutr Neurosci*, 2016, 2:1-8
- [16] Hein AM, Stasko MR, Matousek SB, et al. Sustained hippocampal IL-1 $\beta$  overexpression impairs contextual and spatial memory in transgenic mice [J]. *Brain Behav Immun*, 2010, 24(2):243-253
- [17] Schmidt MA, Wisor JP. Interleukin 1 receptor contributes to methamphetamine-and sleep deprivation-induced hyperlocomotion [J]. *Neurosci Lett*, 2012, 513(2):209-213
- [18] Seminerio MJ, Robson MJ, Mccurdy CR, et al. Sigma receptor antagonists attenuate acute methamphetamine-induced hyperthermia by a mechanism independent of IL-1 $\beta$  mRNA expression in the hypothalamus [J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 691(1/3):103-109
- [19] Liu X, Silverstein PS, Singh V, et al. Methamphetamine increases LPS-mediated expression of IL-8, TNF- $\alpha$  and

讨其对乳腺良恶性肿瘤鉴别诊断的意义。结果显示,组织中 SP70 的高表达在乳腺癌和乳腺良性疾病中有明显差异,乳腺癌患者血清 SP70 水平明显高于乳腺良性疾病患者,提示组织和血清中 SP70 的检测有助于乳腺癌良恶性的鉴别。

[参考文献]

[1] Siegel R, Ma JM, Zou ZH, et al. Cancer statistics, 2014 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2014, 64(1): 9-29

[2] Sardaneli F, Podo F, Santoro F, et al. Multicenter surveillance of women at high genetic breast cancer risk using mammography, ultrasonography, and contrast-enhanced magnetic resonance imaging (the high breast cancer risk Italian 1 study): final results [J]. *Invest Radiol*, 2011, 46(2): 94-105

[3] Nadler M, Al-Attar H, Warner E, et al. MRI surveillance for women with dense breasts and a previous breast cancer and/or high risk lesion [J]. *Breast*, 2017, 34: 77-82

[4] Marmot MG, Altman DG, Cameron DA, et al. The benefits and harms of breast cancer screening: an independent review [J]. *Br J Cancer*, 2013, 108: 2205-2240

[5] Hasanzadeh A, Mesrian Tanha H, Ghaedi K, et al. Aberrant expression of miR-9 in benign and malignant breast tumors [J]. *Mol Cell Probes*, 2016, 30(5): 279-284

[6] 韩月,王芳,徐婷,等. NJ001 特异性抗原在肺癌中的表达及临床意义 [J]. *中华检验医学杂志*, 2013, 36(10): 895-898

[7] Pan SY, Wang F, Huang PJ, et al. The study on newly developed McAb NJ001 specific to non-small cell lung cancer and its biological characteristics [J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e33009

[8] 彭雯,潘世扬,王芳,等. 非小细胞肺癌患者血清中 SP70 的检测及其临床意义 [J]. *中华检验医学杂志*, 2012, 35(6): 554-558

[9] 吴蕾,李大千,荆俊鹏,等. NJ001 特异性抗原在胰腺癌组织中表达的初步研究 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2015, 35(8): 1127-1130

[10] 李月梅,荆俊鹏,吴蕾,等. SP70 在卵巢癌组织中的表达及临床病理意义 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2016, 36(1): 65-68

[11] Catsburg C, Miller AB, Rohan TE. Adherence to cancer prevention guidelines and risk of breast cancer [J]. *Int J Cancer*, 2014, 135(10): 2444-2452

[12] Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008 [J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(12): 2893-2917

[13] Yip CH, Cazap E, Anderson BO, et al. Breast cancer management in middle-resource countries (MRCs): consensus statement from the Breast Health Global Initiative [J]. *Breast*, 2011, 20(Suppl 2): S12-19

[14] Dinkel HP, Trusen A, Gassel AM, et al. Predictive value of galactographic patterns for benign and malignant neoplasms of the breast in patients with nipple discharge [J]. *Br J Radiol*, 2000, 73(871): 706-714

[15] Zhang Y, Zhang K, Luo Z, et al. Circulating long non-coding HOX transcript antisense intergenic ribonucleic acid in plasma as a potential biomarker for diagnosis of breast cancer [J]. *Thorac Cancer*, 2016, 7(6): 627-632

[16] 杨瑞霞,潘世扬,王芳,等. 良恶性胸腔积液鉴别中 SP70 检测的临床意义 [J]. *中华检验医学杂志*, 2012, 35(12): 1150-1154

[收稿日期] 2017-06-25

(上接第 1135 页)

IL-1 $\beta$  in human macrophages through common signaling pathways [J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e33822

[20] Nguyen L, Kaushal N, Robson MJ, et al. Sigma receptors as potential therapeutic targets for neuroprotection [J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 743: 42-47

[21] Ding F, Li Y, Hou X, et al. Oxymatrine inhibits microglia activation via HSP60-TLR4 signaling [J]. *Biomed Rep*, 2016, 5(5): 623-628

[22] Wu D, Zhang X, Zhao M, et al. The role of the TLR4/

NF- $\kappa$ B signaling pathway in A $\beta$  accumulation in primary hippocampal neurons [J]. *Acta Physiologica Sinica*, 2015, 67(3): 319-328

[23] Vollmar P, Kullmann JS, Thilo B, et al. Active immunization with amyloid-beta 1-42 impairs memory performance through TLR2/4-dependent activation of the innate immune system [J]. *J Immunol*, 2010, 185(10): 6338-6347

[收稿日期] 2016-08-01