

versed the sedative action of dexmedetomidine. The loss of righting reflex induced by the dexmedetomidine ($0.20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) was inhibited by T-Q and dbcAMP dose-dependently. **CONCLUSION** α_{2A} -AR might be the main subtype of α_2 -AR which mediated sedation. cAMP and G protein gated inwardly rectifying K^+ channels might be involved in the mechanism of sedation of α_2 -AR agonists.

Key words: α_2 -adrenoceptor; sedation; subtype; dexmedetomidine; signal pathway

Foundation item: The project supported by National Science and Technology Major Project of China (2012ZX09301003-003)

Corresponding author: SU Rui-bin, E-mail: ruibinsu@126.com; ZHOU Pei-lan, E-mail: zhoupeilan0502@sina.com

T6 神经药理学评价方法与新技术及其他领域

T6-1

罗氟司特对脓毒血症小鼠的作用及其机制研究

冯红芳, 陈佳佳, 邹征强, 徐江平

(南方医科大学药学院神经药理与新药发现课题组, 广东广州 510515)

摘要:目的 研究罗氟司特对脓毒血症小鼠的保护作用以及相关的分子作用机制。方法 连续 7 d, 小鼠灌胃给予罗氟司特($0.3, 1.0$ 和 $3.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 第 7 天, 采用盲肠结扎穿刺的方法(CLP)建立小鼠脓毒血症模型。造模后连续 7 d, 记录小鼠死亡时间, 每隔 24 h 观察小鼠生存状态, 按照评分标准评分; 造模后 24 h, 收集血液、腹腔灌洗液和肺、肝、脾, 进行细菌计数; 检测 TNF- α 和 IL-6 的含量; 检测乳酸脱氢酶(LDH), 谷草转氨酶(GOT)和谷丙转氨酶(GPT)的含量; 肺、肝、脾组织病理切片, 经 HE 染色后于光学显微镜下观察病理变化, 并对病理图片进行半定量分析。结果 假手术组、模型组和罗氟司特 $0.3, 1.0$ 和 $3.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组存活率分别为 100%, 0%, 8.3%, 20.0% 和 31.2%, 组间具有显著差异 ($P < 0.01$); 临床观察得分组间具有显著差异 ($P < 0.01$); 与假手术组相比, 模型组细菌密度显著升高 ($P < 0.01$), 药物组细菌密度下降 ($P < 0.05, P < 0.01$); 与假手术组相比, 模型组 TNF- α , IL-6, LDH, GOT 和 GPT 含量显著升高 ($P < 0.05, P < 0.01$), 药物组明显下降 ($P < 0.05, P < 0.01$); 对各组肺、肝、脾进行病理检查, 正常对照组未见明显组织损伤, 模型组炎性细胞浸润、细胞变形坏死等变化显著, 药物组损伤减轻。结论 罗氟司特对脓毒血症小鼠具有明显的保护作用。

关键词: 罗氟司特; 脓毒血症; 盲肠结扎穿刺; 全身炎症反应

基金项目: 国家自然科学基金(81503043; 81373384)

通讯作者: 徐江平, E-mail: jpx@smu.edu.cn, Tel: (020) 61648236

T6-2

基于褪黑激素受体相关信号通路的自闭症发病机制研究

洪玲娟¹, 田 允¹, 王慧娟², 王 欢¹, 邵世怡¹, 陈 琳¹, 韩 峰¹

(1. 浙江大学药学院药理毒理学研究所, 浙江 杭州 310058;
2. 浙江大学医学院附属儿童医院, 浙江 杭州 310052)

摘要:目的 自闭症(Autism)的病因尚不清楚, 临床治疗缺乏有效治疗药物。孕期服用抗癫痫药物丙戊酸(valproic acid, VPA)增加后代患自闭症风险。本项目研究 VPA 影响褪黑激素受体(melatonin receptor type 1, MT1)内吞转运的分子机制。方法 采用 VPA 制作自闭症动物模型, 检测其行为学及神经生化指标。在体外细胞系 HEK293 和 Neuro-2a 中过表达 MT1 和不同时期内含体标记蛋白(Rab5, Rab7, Rab11), 转盘式共聚焦显微镜活细胞 Time-lapse 记录 MT1 的内吞转运过程。HEK293 过表达 Flag-MT1, 不同浓度褪黑激素刺激细胞 60 min 后, 使用 ELISA 法检测细胞膜表面 MT1 的相对含量。使用上述方法检测 VPA ($0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 24 h)预处理后, MT1 的内吞转运过程和细胞膜表面 MT1 的相对含量。利用膜片钳技术记录 VPA 对 Neuro-2a 的全细胞电流的影响, 并且使用 Western 蛋白印迹法检测下游信号蛋白磷酸化水平变化。在 HEK293 细胞中过表达 β -arrestin 2-YFP 和 MT1-CFP, 荧光能量共振转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)技术解析 VPA 对 β -arrestin 2 和 MT1 相互作用的影响。结果 动物实验结果显示, 褪黑激素口服治疗可以减轻实验动物社会交往行为学异常, 改善海马触 CaMKII 及其突触前与突触后底物磷酸化水平。采用细胞生物学技术进一步开展了基于褪黑激素受体相关信号通路的自闭症发病机制研究。我们发现, HEK293 和 Neuro-2a 中 MT1 在褪黑激素处理后内吞首先进入早期内含体, 经由晚期内含体, 一部分受体进入溶酶体降解, 一部分受体通过循环内含体回到细胞膜上, VPA 预处理减弱了受体内吞。ELISA 结果显示, VPA 预处理后细胞膜表面 MT1 相对含量显著升高, 但是由膜片钳技术检测发现 VPA 并不影响 Neuro-2a 的全细胞电流。Western 蛋白印迹法结果发现, VPA 降低了 β -arrestin 2 下游蛋白 ERK1/2 和 G 蛋白下游蛋白 PKA 的磷酸化水平。并且通过 FRET 技术发现 VPA 处理降低了 MT1 与 β -arrestin 2 之间相互作用能力。结论 褪黑激素/MT1/ β -arrestin 2 参与自闭症病理过程中神经元信号转导, 其稳态失衡最终诱发了一系列自闭症关联的神经生物化学及功能改变。

关键词: 自闭症; 褪黑激素受体; 丙戊酸; β -arrestin 2; 荧光能量共振转移

基金项目: 国家自然科学基金(81402908; 81403024)

通讯作者: 韩 峰, E-mail: changhuahan@zju.edu.cn, Tel: (0571) 88208402

T6-3

PEG-胆固醇双重修饰 PBCA 纳米粒脑靶向制剂的研究

胡 晓, 李 林, 张 兰

(首都医科大学宣武医院药物研究室, 北京市神经药物工程技术研究中心, 神经变性病教育部重点实验室, 北京 100053)

摘要:目的 中枢神经系统疾病目前存在的主要问题是血脑屏障通透性的问题, 本实验期望通过制备 PEG-胆固醇双重修饰 PBCA 纳米粒, 提高难透过 BBB 的中枢神经系统疾病的治疗及早期诊断药物的治疗作用。方法 ①采用乳化