

杨根梦, 彭艳霞, 张鑫杰, 等. 核因子 E2 相关因子 2 对甲基苯丙胺诱导小胶质细胞激活和极化的调控作用研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(12): 1-7.

Yang GM, Peng YX, Zhang XJ, et al. Regulation of methamphetamine-induced activation and polarization of microglia by Nrf2 [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(12): 1-7.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.12.001

核因子 E2 相关因子 2 对甲基苯丙胺诱导小胶质细胞 激活和极化的调控作用研究

杨根梦[#], 彭艳霞[#], 张鑫杰, 侯雨含, 许 婧, 李利华, 杜 琦^{*}, 洪仕君^{*}

(国家卫健委毒品依赖和戒治重点实验室/昆明医科大学法学院, 昆明 650500)

【摘要】 目的 探讨核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) 对甲基苯丙胺 (METH) 诱导小胶质细胞激活和极化的调控作用。方法 体外实验以小鼠小胶质 (BV2) 细胞和人小胶质 (HMC3) 细胞为研究对象; 体内实验以野生型小鼠和 Nrf2 基因敲除鼠为研究对象, 分别建立体内外 METH 诱导的毒性模型, 应用免疫荧光 (IF) 和蛋白免疫印迹检测各组细胞和小鼠脑组织内小胶质细胞激活和极化的表达情况。结果 给予 METH 后, BV2 和 HMC3 细胞表达小胶质细胞 M1 表型标志蛋白诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 的荧光水平显著升高 ($P < 0.001$), 而表达小胶质细胞 M2 表型标志蛋白精氨酸酶 1 (Arg1) 的荧光水平明显降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 小鼠皮质内小胶质细胞明显被激活, 皮质内离子钙结合衔接分子 1 (IBA1) 和 iNOS 的表达水平明显升高 ($P < 0.001$, $P < 0.05$), Arg1 的表达水平降低 ($P < 0.01$)。与野生型 METH 组相比, Nrf2 基因敲除后给予 METH 发现小胶质细胞激活的数量明显增多 ($P < 0.01$), 同时 IBA1 和 iNOS 的表达水平有所升高 ($P < 0.001$, $P < 0.01$), Arg1 的表达水平有所降低 ($P < 0.01$)。结论 Nrf2 对 METH 诱导小胶质细胞激活和极化具有重要的调控作用, Nrf2 有望成为治疗 METH 诱导神经炎症的潜在干预靶点。

【关键词】 甲基苯丙胺; 小胶质细胞; 核因子 E2 相关因子 2; 神经毒性作用

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2024) 12-0001-07

Regulation of methamphetamine-induced activation and polarization of microglia by Nrf2

YANG Genmeng[#], PENG Yanxia[#], ZHANG Xinjie, HOU Yuhang, XU Jing, LI Lihua, DU Qi^{*}, HONG Shijun^{*}
(NHC Key Laboratory of Drug Addiction Medicine, School of Forensic Medicine, Kunming Medical University,
Kunming 650500, China)

【Abstract】 Objective To investigate the regulatory role of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) in the activation and polarization of microglia induced by methamphetamine (METH). **Methods** BV2 and HMC3 cells were studied *in vitro* and wild-type mice and Nrf2-knockout mice were studied *in vivo*. *In vivo* and *in vitro* toxicity models induced

[基金项目] 国家自然科学基金 (82202081); 省科技厅基础研究项目 (202301AT070269, 202301AU070216); 省科技厅-昆医联合专项 (202301AY070001-234, 202201AY070001-021)。

[作者简介] 杨根梦 (1992—), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 毒品滥用机制研究。E-mail: 1223984855@qq.com

彭艳霞 (1980—), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 毒品滥用机制研究。E-mail: 20891398@qq.com[#] 共同第一作者

[通信作者] 杜琦 (1977—), 女, 讲师, 研究方向: 毒品滥用机制研究。E-mail: 1770639589@qq.com

洪仕君 (1974—), 男, 博士, 教授, 研究方向: 毒品滥用及戒断干预治疗研究。E-mail: hongshijun@kmmu.edu.cn

^{*} 共同通信作者

by METH were established, respectively. The activation and polarization of microglia in each group were examined using immunofluorescence and Western blot, respectively. **Results** METH treatment significantly increased the fluorescence level of inducible nitric oxide synthase (iNOS) in BV2 and HMC3 cells ($P < 0.001$), and significantly decreased the fluorescence level of Arginase1 (Arg1) ($P < 0.05$, $P < 0.01$). METH exposure activated microglia in the cortex, increased expression levels of ionized calcium binding adaptor molecule-1 (IBA1) and iNOS ($P < 0.001$, $P < 0.05$), and decreased the expression of Arg1 ($P < 0.01$). The number of activated microglia was significantly increased after Nrf2 gene knockout ($P < 0.01$), compared with the WT METH group, while the expression levels of IBA1 and iNOS were also increased ($P < 0.001$, $P < 0.01$) and the expression level of Arg1 was decreased ($P < 0.01$). **Conclusions** Nrf2 plays an important role in regulating the activation and polarization of microglia induced by METH. Nrf2 may thus be a potential target for the treatment of neuroinflammation induced by METH.

[Keywords] methamphetamine; microglial cells; nuclear factor erythroid 2-related factor 2; neurotoxic effect

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

毒品问题是严重危害公共安全和人类健康的全球性问题。最新中国毒情形势报告显示,“冰毒”是我们国家滥用人数最多的毒品。甲基苯丙胺(methamphetamine, METH), 俗称“冰毒”, 是一种新型合成毒品, 主要通过中脑边缘多巴胺系统来发挥作用^[1-2]。研究表明, METH 可通过血脑屏障, 诱导神经细胞凋亡、焦亡和坏死等, 从而损害神经系统^[3-6]。但 METH 诱导神经毒性的作用机制有待进一步研究。

众多研究发现, METH 诱导的神经毒性作用与以小胶质细胞活化为特征的神经炎症反应有关^[7-8]。小胶质细胞是大脑中释放炎症因子的主要细胞, 长期滥用 METH 可诱导小胶质细胞增生, 并分泌大量的促炎性细胞因子^[9]。根据小胶质细胞激活和极化的功能状态分为小胶质细胞 M1 促炎型和小胶质细胞 M2 抗炎修复型^[10-11]。M1 型主要是可以增强氧化产物及促炎因子的产生, M1 型常见的细胞分化标志物有诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)、CD16/32 和 CD68 等。M2 型主要是可诱导抗炎因子、营养因子和促进组织修复的因子的产生^[10-12]。M2 型常见的细胞分化标志物有精氨酸酶 1 (Arginase1, Arg-1) 和 CD206 等^[9, 13]。研究发现, METH 诱导的神经毒性作用与氧化应激和神经炎症反应密切相关^[14]。但 METH 诱导神经炎症反应和氧化应激的机制尚未阐明。

核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 是一种重要的转录因子, 可通过启动一系列抗氧化基因的转录对细胞内环境的稳态和炎症反应发挥重要调控作用^[1, 15]。前期研究表明, Nrf2 通路参与 METH 激活炎性小体诱导神经炎症反应的过程, 如 METH 可激活 NOD 样受体热

蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3) 炎性小体, 但 Nrf2 对 METH 诱导小胶质细胞极化表型的调控作用不清楚。

综上, 本研究的目的是探讨 Nrf2 对 METH 诱导小胶质细胞激活和极化的调控作用。本研究以小胶质细胞 (BV2) 细胞、人小胶质细胞 (HMC3) 细胞以及 Nrf2 敲除鼠为研究对象, 建立 METH 诱导小胶质细胞和小鼠的毒性模型, 通过体内和体外实验共同探讨 Nrf2 对 METH 诱导小胶质细胞激活和极化的调控作用, 该研究可为揭示 METH 神经毒性作用机制提供新思路。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 细胞

BV2 细胞和 HMC3 细胞由国家卫健委毒品依赖和戒治重点实验室提供。

1.1.2 实验动物

参照课题组前期的实验方法^[2], 选择 SPF 级成年野生型雄性 C57BL/6J 小鼠和 Nrf2 基因敲除 (Nrf2 gene knockout, Nrf2-KO) 小鼠各 10 只, 6~8 周龄, 体重 18~20 g, 所有小鼠均饲养于昆明医科大学 SPF 级环境中 [SYXK (滇) K2020-0006]。野生型 C57BL/6J 小鼠购于河南斯克贝斯生物科技股份有限公司 [SCXK (豫) 2020-0005], Nrf2-KO 小鼠购于赛业公司 [SCXK (苏) 2022-0016]。本次实验通过了动物实验伦理审查委员会审查批准 (kmmu20211313), 在实验过程中严格做到了 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

Arg1 (16001-1-AP)、IBA1 (81728-1-RR) 和 iNOS

(22226-1-AP) 均购买于 Proteintech 公司; METH (171212-200603) 购买于中国食品药品检定研究院; 杜氏改良 Eagle 培养基 (Dulbecco's modification of Eagle's medium, DMEM) (2036135) 和胎牛血清 (Fetal bovine serum, FBS) (2033119) 购买于 BI 公司; 放射性免疫沉淀检测 (radio immunoprecipitation assay, RIPA) 裂解液 (P0013B) 和 Bicinchoninic Acid (BCA) 蛋白定量试剂盒 (P0012) 购买于碧云天; 0.45 μm 聚偏二氟乙烯膜 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜购买于 GE Healthcare Life Sciences 公司; 5 $\times$ 蛋白上样缓冲液 (P0015L) 购买于碧云天; 脱脂牛奶 (# 8064872) 购买于 BD 公司; 4% 多聚甲醛 (BL539A, 69120900) 购买于 Solarbio; 苏木素 (C0105M) 购买于碧云天; 聚乙二醇辛基苯基醚 (# T8200) 购买于 Solarbio; 山羊血清 (SL038) 购买于 Solarbio; 封片剂 (S2110) 购买于 Solarbio。切片扫描仪 (KF-LPE-006) 购买于宁波江丰生物信息技术有限公司; 凝胶成像系统 (734BR5256) 购买于美国 Bio-Rad 公司; 倒置荧光显微镜成像系统 (AF7000) 购买于德国 Leica; 超低温冰箱 (DW-HL388) 购买于中科美菱低温科技股份有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 BV2 细胞和 HMC3 细胞培养

参照课题组前期的培养方法^[2], 复苏 BV2 细胞和 HMC3 细胞, 培养细胞用含 10% FBS、1% 青霉素-链霉素混合液的 DMEM 高糖培养基, 培养皿内细胞长到 70%~90% 可进行细胞传代。给予 BV2 细胞和 HMC3 细胞的 METH 浓度是 0.1 mmol/L, 作用时间是 24 h。

1.3.2 动物实验

参照课题组前期的动物实验建模方案^[2], 将野生型 (wild type, WT) 和 Nrf2-KO 小鼠随机分成两个组, 即生理盐水 (Control) 组 (10 mL/kg, $n=10$) 和 METH 组 (2 mg/kg, $n=10$), 每天给药 2 次, 间隔 12 h, 给药时间持续 7 d。给药结束后麻醉小鼠, 部分小鼠用 4% 多聚甲醛灌注和固定。部分小鼠脑组织分离出前额叶皮质后保存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 备用。

1.3.3 苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色

参照课题组前期的实验方法^[2], 石蜡切片经过脱蜡、脱水 (二甲苯 10 min $\times$ 3 次, 无水乙醇 10 min $\times$ 2 次, 95% 无水乙醇 5 min, 90% 无水乙醇 5 min, 80% 无水乙醇 5 min, 70% 无水乙醇 5 min) 和漂洗后用苏木素染核, 经过脱水、晾干和中性树胶封片, 应

用切片扫描仪扫片并分析结果。

1.3.4 免疫荧光 (immunofluorescence, IF)

参照课题组前期的实验方法^[1], 通过爬片后接种细胞, 待细胞长到 60%~70% 后加入 METH 作用 24 h 后, 经过 4% 多聚甲醛固定细胞和 0.3% 聚乙二醇辛基苯基醚 (Triton X-100) 通透细胞膜以及 10% 山羊血清封闭后, 加入相应的一抗 Arg1 (1:200)、iNOS (1:200) 和 IBA1 (1:200) 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。再加入二抗 (1:200), 孵育 2 h。漂洗后滴加含 4', 6-二脒基-2-苯基吲哚 (4', 6-diamidino-2-phenylindole, DAPI) 的抗荧光淬灭剂封片, 用倒置荧光显微镜采集图像。

1.3.5 蛋白免疫印迹 (Western blot)

参照课题组前期实验方法^[2], 各组细胞和小鼠脑组织通过 RIPA 裂解液裂解 30 min 后 12 000 r/min 离心 15 min。取上清液测定蛋白浓度, 并进行蛋白变性。通过凝胶电泳分离蛋白后, 将蛋白转移到 PVDF 膜上, 用 5% 的脱脂牛奶封闭 1 h。用 Tris-HCl 缓冲盐溶液加吐温 20 (Tris Buffered Saline and Tween 20, TBST) 洗膜后, 加入相应的一抗 IBA1 (1:1000)、Arg1 (1:1000)、iNOS (1:1000) 和 β -肌动蛋白 (β -actin) 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。用 TBST 洗膜后加相应的二抗 (1:5000), 孵育 1 h。洗膜后应用超高灵敏度化学发光凝胶成像仪观察图像并用 Image J 软件进行结果分析。

1.4 统计学方法

实验数据分析和结果统计采用 GraphPad Prism 8、SPSS 28.0 软件和 AI 进行。实验数据以平均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示。组间比较采用 t 检验, $\alpha=0.05$ 为检验标准, $P<0.05$ 认为差异具有统计学意义。

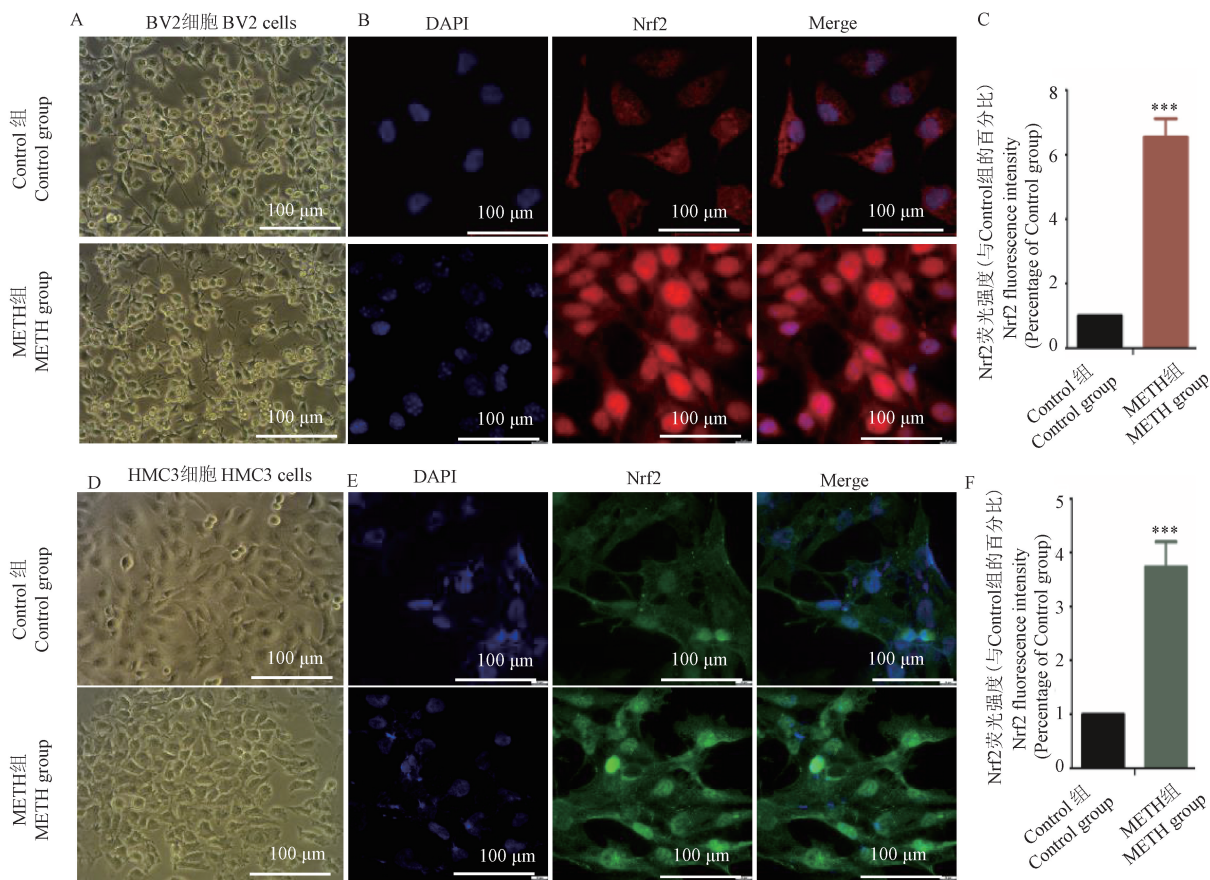
2 结果

2.1 METH 诱导小胶质细胞表达 Nrf2

与 Control 组相比, METH 可引起细胞间隙增宽, 细胞皱缩变圆, 细胞突触变短, 细胞贴壁状态不佳。如图 1 用 IF 检测各组细胞表达 Nrf2 的情况。与 Control 组相比, METH 组 BV2 细胞和 HMC3 细胞表达 Nrf2 的荧光水平明显升高 ($P<0.001$), 且 Nrf2 发生明显核移位, 核内 Nrf2 荧光水平明显增强。

2.2 METH 可明显激活小胶质细胞

如图 2 所示, 与 Control 组相比, 给予 METH 后, BV2 细胞表达 M1 (iNOS) 表型的荧光水平明显升高 ($P<0.001$)。与 Control 组比, 给予 METH 后, BV2



注:A:BV2 的形态学变化;B:BV2 细胞表达 Nrf2 的荧光情况;C:BV2 细胞表达 Nrf2 的荧光强度;D:HMC3 细胞的形态学变化;E:HMC3 细胞表达 Nrf2 的荧光情况;F:HMC3 细胞表达 Nrf2 的荧光强度。与 Control 组相比, *** $P<0.001$ 。

图 1 METH 诱导小胶质细胞形态改变和 Nrf2 的表达 ($n=3$)

Note. A, Morphological changes of BV2 cells. B, IF was used to detect the expression of Nrf2 in BV2 cells. C, Fluorescence intensity of Nrf2 in BV2 cells. D, Morphological changes of HMC3 cells. E, IF was used to detect the expression of Nrf2 in HMC3 cells. F, Fluorescence intensity of Nrf2 in HMC3 cells. Compared with Control group, *** $P<0.001$.

Figure 1 Effect of METH on the morphology of microglia and Nrf2 expression in microglia

细胞表达 M2(Arg1)表型的荧光水平有所降低 ($P<0.05$)。

与 Control 组相比,给予 METH 后,HMC3 细胞表达 M1(iNOS)表型的荧光水平显著性升高 ($P<0.001$),而 HMC3 细胞表达 M2(Arg1)表型的荧光水平明显降低 ($P<0.01$)。

2.3 敲除 Nrf2 后,METH 对小胶质细胞激活和极化的影响

如图 3A 显示,与 Control 组相比,给予 METH 后,WT 小鼠皮质内神经细胞水肿,嗜酸性增强,可见红色神经元改变。如图 3B 显示,与 Nrf2-KO Control 组相比,Nrf2-KO METH 组神经细胞胞体肿胀、嗜酸性变,红色神经元数量明显增多。与 WT METH 组相比,Nrf2-KO METH 组神经细胞嗜酸性变

较明显,红色神经元数量有所增多。

如图 3A、3B 所示,与 Control 组相比,给予 METH 后 WT 小鼠皮质内小胶质细胞激活的数量有所增多。而敲除 Nrf2 后,与 WT METH 组相比,Nrf2-KO METH 组小胶质细胞激活的数量更多。

如图 3C 所示,与 Control 组相比,WT METH 组皮质表达 IBA1 和 iNOS 的水平有所升高 ($P<0.001$, $P<0.05$),而表达 Arg1 的水平明显降低 ($P<0.01$)。Nrf2 基因敲除后,与 Nrf2-KO Control 组相比,Nrf2-KO METH 组皮质表达 IBA1 和 iNOS 的水平明显升高 ($P<0.001$, $P<0.01$),而表达 Arg1 的水平明显降低 ($P<0.01$)。与 WT METH 组相比,Nrf2-KO METH 组皮质表达 IBA1 和 iNOS 的水平有所升高,而表达 Arg1 的水平有所降低。

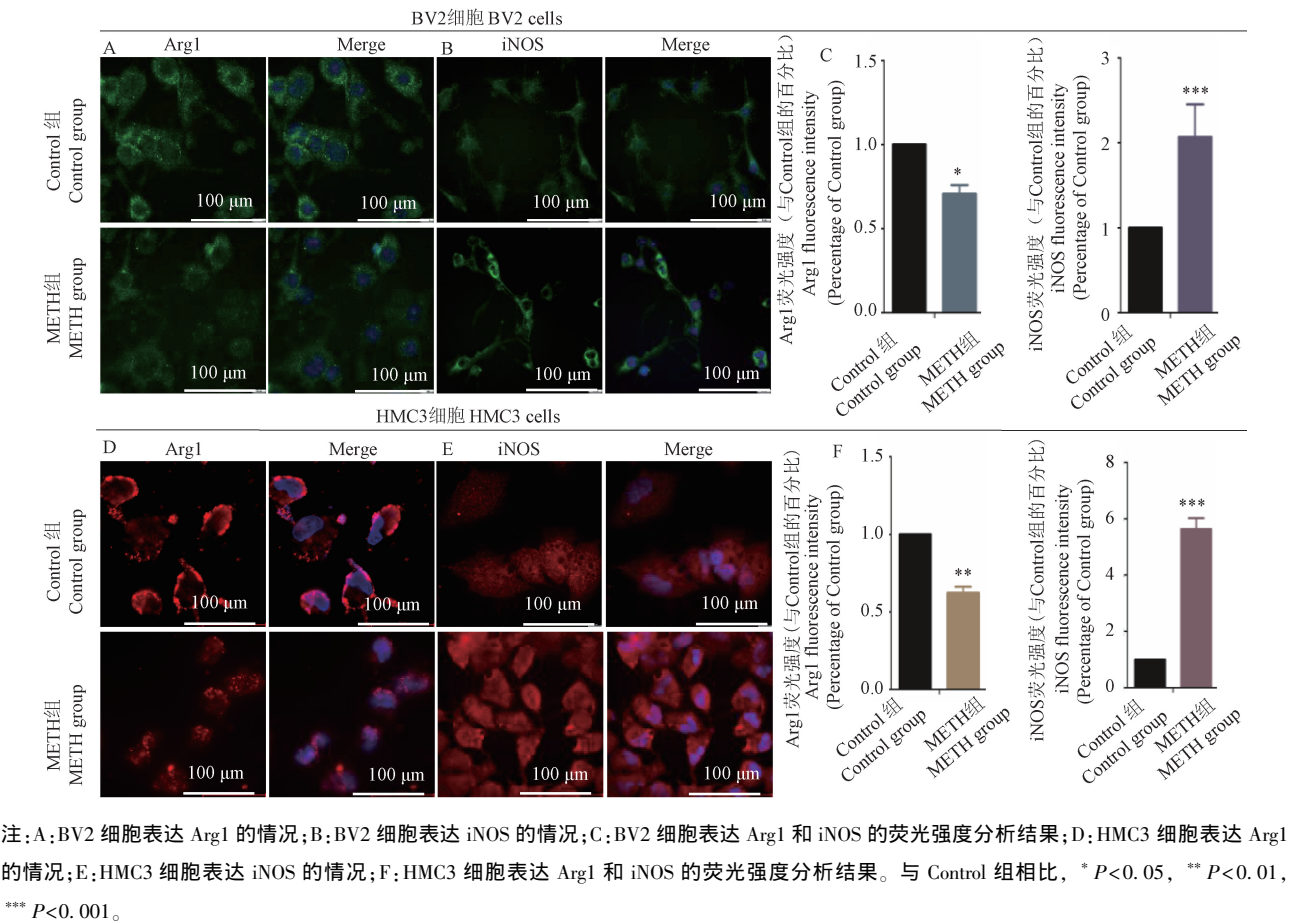


图 2 METH 激活小胶质细胞($n = 3$)

Note. A, Expression of Arg1 in BV2 cells. B, Expression of iNOS in BV2 cells. C, Result of fluorescence intensity analysis of Arg1 and iNOS in BV2 cells. D, Expression of Arg1 in HMC3 cells. E, Expression of iNOS in HMC3 cells. F, Result of fluorescence intensity analysis of Arg1 and iNOS in HMC3 cells. Compared with Control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

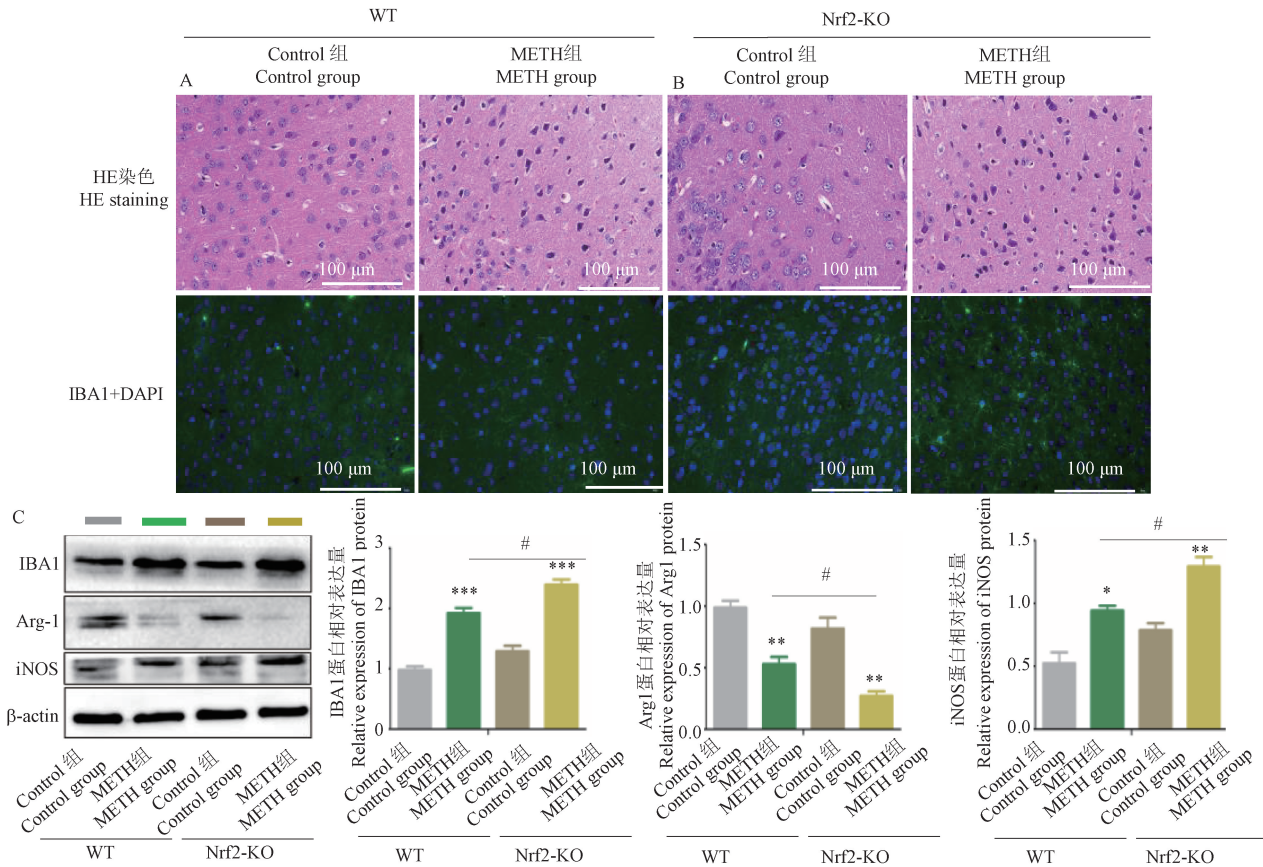
Figure 2 METH activates microglia

3 讨论

小胶质细胞的激活对免疫反应和神经元存活较为重要^[16]。可通过检测 IBA1 的表达水平来判断小胶质细胞的激活程度,静息态的小胶质细胞表现为分支状,即极化表型为 M1 型;激活态的小胶质细胞则呈变形虫状,即极化表型为 M2 型^[17]。METH 滥用诱导的神经炎症与小胶质细胞的激活和活化存在着密切联系。注射 METH 后,海马区星形胶质细胞和小胶质细胞均可显著被激活^[18]。METH 可通过诱导细胞因子如白细胞介素-8(interleukin-8, IL-8)和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等的释放增强神经毒性作用^[19]。此外, METH 诱导神经毒性作用可能与神经炎症尤其是与激活小胶质细胞和 NLRP3 炎性小体有关^[20],但作用机制尚未阐明。

本研究主要是探讨 Nrf2 对 METH 诱导小胶质

细胞激活和极化的调控作用。主要发现 METH 对 BV2 细胞和 HMC3 细胞具有毒性作用,且可激活 Nrf2 通路。同时, METH 可诱导小胶质细胞极化和增强小胶质细胞的促炎作用,而降低小胶质细胞的抗炎作用。为了进一步探讨 Nrf2 对 METH 诱导小胶质细胞激活和极化的调控作用,我们分别利用野生型和 Nrf2 基因敲除小鼠建立了 METH 毒性模型。结果显示给予 METH 后,可激活小鼠皮质内的小胶质细胞,同时可增强小鼠的促炎作用和降低抗炎作用。而 Nrf2 敲除后, METH 增强小鼠的促炎作用和降低抗炎作用更显著。在 METH 的作用下,神经元的正常功能受到干扰,可能导致细胞内环境的紊乱和氧化应激的增加, METH 可通过激活小胶质细胞,诱导小胶质细胞极化,释放大量的炎性介质,此时, Nrf2 通路的激活可能是一个保护性的反应,通过增加抗氧化物质的产生来对抗由 METH 引起的氧化



注:A: WT 小鼠皮质的 HE 染色结果和 IBA1 的表达;B: Nrf2-KO 小鼠皮质的 HE 染色结果和 IBA1 的表达;C: Western blot 检测小鼠前额叶皮质中 IBA1、Arg-1 和 iNOS 的表达。与 Control 组相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$;与 WT METH 组相比, # $P<0.05$ 。

图 3 METH 诱导小鼠皮质神经细胞形态改变和激活小胶质细胞的情况($n=3$)

Note. A, HE staining results and IBA1 expression in cortex of WT mice. B, HE staining results and expression of IBA1 in cortex of Nrf2-KO mice. C, Western blot was used to detect the expression of IBA1, Arg-1 and iNOS in the prefrontal cortex of mice. Compared with Control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$. Compared with WT METH group, # $P<0.05$.

Figure 3 Effect of METH on morphology of neurons and activation of microglia in mice

损伤。此外, METH 还可能通过影响其他信号通路来间接调节 Nrf2 通路的活性。然而, 长期或过度的 Nrf2 激活可能会引发或加剧神经炎症反应。除了 Nrf2 通路可调控 METH 诱导小胶质细胞激活和极化以外, METH 可通过非编码 RNA 参与调节神经炎症反应^[21-22]。还有研究表明, METH 激活小胶质细胞的机制可能与高迁移率族蛋白 B1、Sigma-1R、NF- κ B 和 Toll 样受体 4 激活等有关^[23-26]。星形胶质细胞增生也是 METH 滥用损伤神经系统后的后果之一。总之, 神经炎症反应是一个复杂的病理过程, 涉及多种细胞和分子的相互作用。本研究探讨了 Nrf2 对 METH 诱导小胶质细胞激活和极化的调控作用。通过了解 METH 诱导小胶质细胞激活和极化介导神经炎症的调控机制, 可为阐明 METH 的神经毒性作用机制提供新思路。

参考文献:

[1] YANG G, LI J, LEUNG C K, et al. Methamphetamine and HIV-1 Tat proteins synergistically induce microglial autophagy via activation of the Nrf2/NQO1/HO-1 signal pathway [J]. *Neuropharmacology*, 2022, 220: 109256.

[2] 苗霖, 彭艳霞, 王凤, 等. 甲基苯丙胺损伤神经系统双链 DNA 的作用研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2023, 33(7): 1-8.

MIAO L, PENG Y X, WANG F, et al. Methamphetamine damages double-stranded DNA in the nervous system [J]. *Chin J Comp Med*, 2023, 33(7): 1-8.

[3] 王郁芳. TRPV4 参与甲基苯丙胺诱导神经炎症的机制研究 [D]. 长沙: 中南大学, 2023.

WANG Y F. Study on the mechanism of TRPV4 involved in methamphetamine-induced neuroinflammation [D]. Changsha: Central South University, 2023.

[4] EVERETT N A, BARACZ S J, CORNISH J L. The effect of

- chronic oxytocin treatment during abstinence from methamphetamine self-administration on incubation of craving, reinstatement, and anxiety [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2020, 45(4): 597–605.
- [5] FUJIKAWA D G, PAIS E S, AVILES E R Jr, et al. Methamphetamine-induced neuronal necrosis: the role of electrographic seizure discharges [J]. *Neurotoxicology*, 2016, 52: 84–88.
- [6] LIU Y, WEN D, GAO J, et al. Methamphetamine induces GSDME-dependent cell death in hippocampal neuronal cells through the endoplasmic reticulum stress pathway [J]. *Brain Res Bull*, 2020, 162: 73–83.
- [7] PARK J H, SEO Y H, JANG J H, et al. Asiatic acid attenuates methamphetamine-induced neuroinflammation and neurotoxicity through blocking of NF- κ B/STAT3/ERK and mitochondria-mediated apoptosis pathway [J]. *J Neuroinflammation*, 2017, 14(1): 240.
- [8] WANG B, CHEN T, WANG J, et al. Methamphetamine modulates the production of interleukin-6 and tumor necrosis factor- α via the cAMP/PKA/CREB signaling pathway in lipopolysaccharide-activated microglia [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 56: 168–178.
- [9] 罗维, 范梦瑶, 黎晓. CX3CL1/CX3CR1 调控小胶质细胞功能的研究进展 [J]. *中国病理生理杂志*, 2024, 40(5): 938–943.
LUO W, FAN M Y, LI X. Progress in regulation of microglial function by CX3CL1/CX3CR1 [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2024, 40(5): 938–943.
- [10] 张明杰, 段丛妍, 王少峡. 调节小胶质细胞极化状态的受体研究进展 [J]. *神经损伤与功能重建*, 2024, 19(4): 239–241, 246.
ZHANG M J, DUAN C Y, WANG S X. Research progress of receptors regulating microglia polarization state [J]. *Neural Inj Funct Reconstr*, 2024, 19(4): 239–241, 246.
- [11] BLOCK M L, HONG J S. Microglia and inflammation-mediated neurodegeneration: multiple triggers with a common mechanism [J]. *Prog Neurobiol*, 2005, 76(2): 77–98.
- [12] ORIHUELA R, MCPHERSON C A, HARRY G J. Microglial M1/M2 polarization and metabolic states [J]. *Br J Pharmacol*, 2016, 173(4): 649–665.
- [13] YANG X, XU S, QIAN Y, et al. Resveratrol regulates microglia M1/M2 polarization via PGC-1 α in conditions of neuroinflammatory injury [J]. *Brain Behav Immun*, 2017, 64: 162–172.
- [14] SHAFABI M, VAEZI G, SHAJIEE H, et al. Crocin inhibits apoptosis and astrogliosis of hippocampus neurons against methamphetamine neurotoxicity via antioxidant and anti-inflammatory mechanisms [J]. *Neurochem Res*, 2018, 43(12): 2252–2259.
- [15] HE F, ANTONUCCI L, KARIN M. NRF2 as a regulator of cell metabolism and inflammation in cancer [J]. *Carcinogenesis*, 2020, 41(4): 405–416.
- [16] KIM S J, LI J. Caspase blockade induces RIP3-mediated programmed necrosis in Toll-like receptor-activated microglia [J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4(7): e716.
- [17] NEUMANN J, SAUERZWEIG S, RÖNICKE R, et al. Microglia cells protect neurons by direct engulfment of invading neutrophil granulocytes: a new mechanism of CNS immune privilege [J]. *J Neurosci*, 2008, 28(23): 5965–5975.
- [18] LWIN T, YANG J L, NGAMPAMUAN S, et al. Melatonin ameliorates methamphetamine-induced cognitive impairments by inhibiting neuroinflammation via suppression of the TLR4/MyD88/NF κ B signaling pathway in the mouse hippocampus [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2021, 111: 110109.
- [19] GONÇALVES J, MARTINS T, FERREIRA R, et al. Methamphetamine-induced early increase of IL-6 and TNF- α mRNA expression in the mouse brain [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2008, 1139: 103–111.
- [20] DU L, SHEN K, BAI Y, et al. Involvement of NLRP3 inflammasome in methamphetamine-induced microglial activation through miR-143/PUMA axis [J]. *Toxicol Lett*, 2019, 301: 53–63.
- [21] YU G, SONG Y, XIE C, et al. MiR-142a-3p and miR-155-5p reduce methamphetamine-induced inflammation: Role of the target protein Peli1 [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2019, 370: 145–153.
- [22] 张树威, 程浩, 王浩伟, 等. 非编码 RNA 在甲基苯丙胺诱导成瘾及神经毒性作用的研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2024, 34(2): 114–121.
ZHANG S W, CHENG H, WANG H W, et al. Research progress of non-coding RNA in methamphetamine-induced addiction and neurotoxicity [J]. *Chin J Comp Med*, 2024, 34(2): 114–121.
- [23] ZHANG Y, ZHU T, ZHANG X, et al. Role of high-mobility group box 1 in methamphetamine-induced activation and migration of astrocytes [J]. *J Neuroinflammation*, 2015, 12: 156.
- [24] MENG Y, DING J, LI C, et al. Transfer of pathological α -synuclein from neurons to astrocytes via exosomes causes inflammatory responses after METH exposure [J]. *Toxicol Lett*, 2020, 331: 188–199.
- [25] DU S H, QIAO D F, CHEN C X, et al. Toll-like receptor 4 mediates methamphetamine-induced neuroinflammation through caspase-11 signaling pathway in astrocytes [J]. *Front Mol Neurosci*, 2017, 10: 409.
- [26] 澹忆, 杨根梦, 张树威, 等. 甲基苯丙胺与 HIV-1 Tat 蛋白单独及协同诱导神经炎症机制的研究进展 [J]. *中国药理学通报*, 2023, 39(8): 1417–1421.
TAN Y, YANG G M, ZHANG S W, et al. Research progress on the mechanism of neuroinflammation induced by methamphetamine and HIV-1 Tat protein alone and synergistically [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2023, 39(8): 1417–1421.