

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.09.006

神经病理性疼痛大鼠海马 miRNA 差异性表达研究*

田润利 郭朝晖 李永男[△] 杜仁峰 罗庆玲 刘 战 彭 影

(哈尔滨医科大学附属第四医院 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 目的:探讨神经病理性疼痛大鼠海马差异性表达的 miRNAs,并预测其在神经病理性疼痛发病机制中的作用。**方法:**通过建立 L5 神经结扎横切(L5 Spinal Nerve Transection, L5-SNT)所致神经病理性疼痛大鼠模型,在机械痛阈检测结束后处死大鼠,剥离海马组织,提取 miRNA 进行测序,找出 L5-SNT 大鼠海马差异表达的 miRNAs,并对其进行靶基因预测及功能分析。**结果:**L5-SNT 大鼠模型建立成功,手术侧足底机械痛阈明显低于正常组和假手术组大鼠($P<0.05$)。miRNA 测序结果显示:L5-SNT 组的大鼠海马 miRNAs 发生明显的差异性表达,其中显著下调的为: rno-miR-30c-2-3p、rno-miR-370-3p、rno-miR-541-3p、rno-miR-22-3p ($P<0.05$);显著上调 miRNAs 为: rno-miR-32-5p($P<0.05$);对上述差异性表达明显的 miRNAs 进行靶基因预测及功能分析,推测与海马神经病理性疼痛有关的靶基因有: *Mapk14*、*Camk2b*、*Ntrk2*、*Cxcl12*。**结论:**L5-SNT 大鼠海马的差异性 miRNAs 及其靶基因功能可能主要与海马 MAPK 信号通路、长时程增强、炎症反应及细胞周期有关。

关键词:神经病理性疼痛;海马;miRNA;靶基因

中图分类号:R-33;R441.1;R338 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)09-1628-05

Differential Expression of miRNA in the Hippocampus of Rats with Neuropathic Pain*

TIAN Run-li, GUO Zhao-hui, LI Yong-nan[△], DU Ren-feng, LUO Qing-ling, LIU Zhan, PENG Ying

(The Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT Objective: To explore the differential expression of miRNAs in hippocampus of rat suffered from neuropathic pain, and further deduce the role of them in the neuropathic pain. **Methods:** L5 spinal nerve transection induced-neuropathic pain of rat models (L5-SNT) were used in this study. After finishing the behavioral test, rats were euthanized and the hippocampi were harvested rapidly for miRNA extraction. The miRNAs which changed most significantly in the hippocampus were found out, and then speculate its pain-associated target gene using miRNA databases. **Results:** The neuropathic pain model was successfully established, whose threshold of mechanical pain sensitivity reduced significantly compared with the control group and the sham-operated group ($P<0.05$). Microarray showed that the expression of miRNAs in L5-SNT group significantly changed, the expression of rno-miR-30c-2-3p, rno-miR-370-3p, rno-miR-541-3p and rno-miR-22-3p were significantly down-regulated ($P<0.05$) and the expression of rno-miR-32-5p was significantly up-regulated ($P<0.05$). After target gene prediction and function analysis of miRNAs which changed dramatically in the experiment, we hypothesized that following target gene was pain-associated: *Mapk14*, *Camk2b*, *Ntrk2*, *Cxcl12*. **Conclusions:** The changes of miRNAs expression and its target genes function in the hippocampus of L5-SNT rats might be related to the MAPK signal pathway, long term potentiation, inflammatory response and cell cycle.

Key words: Neuropathic pain; Hippocampus; miRNA; Target gene

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R441.1; R338 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)09-1628-05

前言

神经病理性疼痛(Neuropathic Pain, NP)是由躯体感觉系统损害或疾病所引起的疼痛^[1],其特点为持续的自发痛、痛觉异常和痛觉过敏。据统计,神经病理性疼痛在普通人群的发病率为7%-10%^[2],可严重影响患者的生活质量,甚至引起致残。目前,神经病理性疼痛尚无确切的病因治疗方法,包括最有效的镇痛药物在内的现有治疗手段只能有限的缓解症状^[3,4]。外周和中枢神经系统感觉神经元的长期过度兴奋而引起的基因表达改变

是神经病理性疼痛的主要机制之一^[5]。

miRNA 作为一种非编码 RNA,通过作用于转录后水平使靶 mRNA 降解或抑制靶基因的翻译,在基因表达调控和修饰中发挥关键作用。研究表明海马参与疼痛的形成和维持^[6],但目前尚无关于海马 miRNA 参与神经病理性疼痛发病机制的相关研究报道。本实验通过建立大鼠 L5-SNT 模型,找出神经病理性疼痛大鼠海马差异性表达的 miRNA,对差异性表达 miRNA 的靶基因预测和功能分析,探讨 miRNAs 在神经病理性疼痛的发病机制中的作用,以期为其治疗提供新的理论依据。

* 基金项目:黑龙江省留学归国基金项目(LC2012C23);黑龙江省博士后基金项目(LBH-Q12027);黑龙江省教育厅科研基金项目(12541470)

作者简介:田润利(1989-),女,硕士研究生,主要研究方向:疼痛,电话:15603612512, E-mail:reamo90@163.com

[△] 通讯作者:李永男(1968-),主任医师,硕士生导师,主要研究方向:疼痛、癫痫,电话:13804563287, E-mail:yongnanli818@aliyun.com

(收稿日期:2017-06-30 接受日期:2017-07-25)

1 材料与方法

1.1 动物分组与模型制备

6 周龄 SD 大鼠 24 只, 体重 175-225 g, 购自上海斯莱克实验动物有限公司。实验开始前动物设施内适应一周。按照完全随机化法(每组 $n=8$), 随机分为正常对照组(Z 组)、假手术组(J 组)和模型组(M 组)。M 组大鼠腹腔注射 3% 的水合氯醛 10 ml/kg 麻醉后, 参照 Kim^[7]的方法制备左侧 L5 神经结扎后横切模型(L5 Spinal Nerve Transection, L5-SNT), 在背部正中 L4-S1 处切开皮肤, 分离左侧椎旁肌肉, 去除 L6 横突和 L5 椎板, 在靠近 L5 背根神经节处结扎神经, 并在神经远端切断, 创面撒青霉素粉末后缝合切口。J 组仅切开皮肤, 分离肌肉去除横突椎板, 不结扎及切断神经, 余同 M 组。

1.2 行为学测定

于大鼠术前 1 天, 术后 1、2、3、7、10 和 14 天的每天上午 9:00-11:00, 将大鼠放于钢丝网格架, 上面罩上透气的有机玻璃盒, 使其适应环境 30 min 后, 以 2 g von Frey 丝为起始刺激大鼠手术侧足底部, 大鼠出现舔足、缩足或抬腿躲避时为阳性, 记录数值, 然后更换相邻小刻度 von Frey 丝继续刺激, 若阴性, 则更换大一刻度, 以此类推, 记录包括第一次阳性结果在内的 6 个数值, 根据 Dixon^[8]的 up-and-down 法计算大鼠 50% 机械缩足阈值(50% mechanical withdraw threshold, 50% MWT)。

在术后 14 天, 行为学测定结果显示 Z 组及 J 组大鼠机械痛阈测定无统计学差异, 所以以 J 组为对照组, J 组及 M 组随机各取 3 只大鼠, 标记为(J1/J2/J3 和 M1/M2/M3)。将大鼠处死后, 立即剥离大脑, 取下海马组织放于 -80°C 液氮中保存。

1.3 海马组织 miRNA 的测序

用 TRIzol 试剂盒对大鼠海马组织进行总 RNA 的提取, 通过凝胶电泳, 收集小片段的 RNA 片段, 去磷酸化处理后加入接头序列; 利用反转录酶与 DNA 聚合酶, 进行反转录与 PCR 扩增; 然后, 收集 PCR 扩增产物完成文库制备工作, 并将文库应用 HiSeq 2500 测序平台进行 SE50 测序, 获取测序数据后, 进行生物信息学分析。

1.4 信息分析和数据处理

Illumina 测序完成后, 用 fastqc 检测原始测序数据并做统计分析, 然后用 prinseq-lite 和 fastx-toolkit 对原始数据进行质量控制, 将所得到的 clean reads 定位到参考基因组并进行转录注释。筛选假手术组和模型组之间的显著差异表达 miRNAs, 并对其进行靶基因预测, 然后对差异性表达显著的 miRNAs 靶基因进行功能富集及通路分析。

1.5 统计学分析

数据统计用 SPSS 22.0 统计软件进行。符合正态分布计量资料以均数 $\pm$ 标准差表示, 多组之间的比较采用单因素方差分析后, Student-Newman-Keuls 多组配对 T 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 行为学测定结果

术后大鼠无自残现象。M 组大鼠手术侧足部轻微外翻, 足趾微屈并拢, 常放置于尾部或悬空, 但无跛行。假手术组及正常组大鼠无此现象。机械痛阈测定结果如下: 与术前 1d 比较, M

组大鼠术后手术侧机械痛阈迅速降低($P<0.05$), 与 J 组和 Z 组比较, M 组手术侧 50% MWT 明显下降($P<0.05$)。

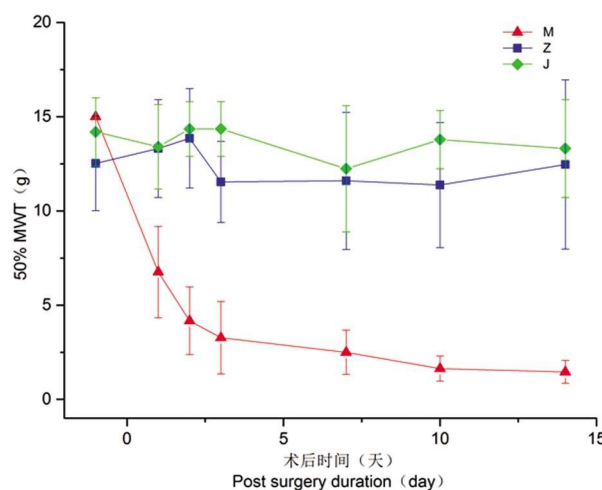


图 1 大鼠机械痛阈测定结果

Fig.1 The results of the mechanical withdraw threshold of rats

2.2 大鼠海马 RNA 测序数据质控分析结果

用 fastqc 检测原始测序数据并做统计分析, 然后用 prinseq-lite 和 fastx_toolkit 进行原始数据质量控制, 尽可能的过滤掉不可靠的碱基及 reads 后, 得到 6 个样本 clean data, 对这些 clean reads 进行统计分析及后续的分析。结果显示, raw data 和 clean data 质量值大于或等于 20 的碱基占 99% 以上 (Q20 即 100 个碱基中有 1 个会识别出错)。

2.3 测序数据 map 结果

用 bowtie 软件(v0.12.9)将 clean reads map 到大鼠参考基因组(UCSC, RN5.0), 程序使用默认参数。map rate > 93.7%, 表明所选参考基因组能满足信息分析的需求, 后期的数据分析的可靠性较高。

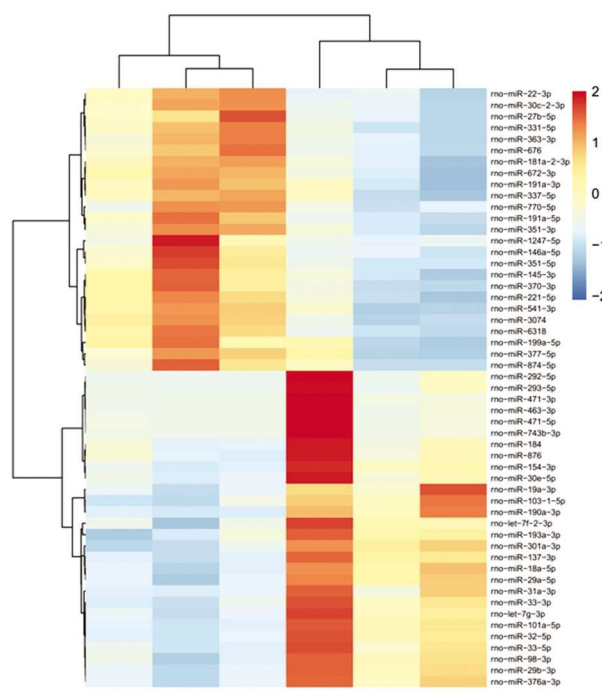
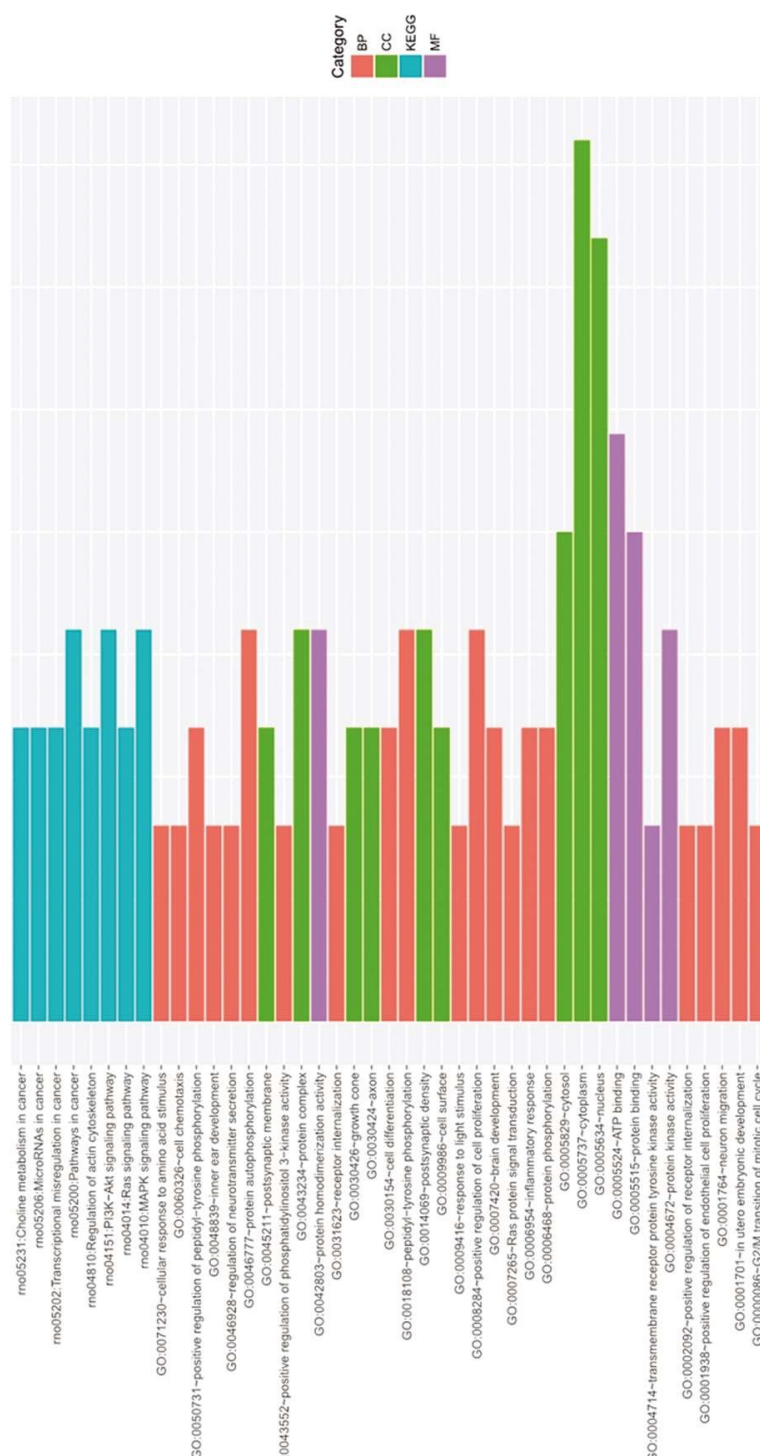


图 2 差异表达 miRNAs 热图

Fig.2 The heatmap of the differential expressed miRNAs

图4 上调 miRNAs 靶基因显著功能富集和通路分析结果($P < 0.05$)Fig.4 The enrichment and pathway analysis of target genes of up-regulated miRNAs($P < 0.05$)

3 讨论

miRNA 作为一种非编码 RNA, 与蛋白结合后形成 RNA 诱导基因沉默复合物(RISC), 然后以不完全互补的方式与 mRNA 结合, 通过作用于转录后水平使靶 mRNA 降解或抑制靶基因的翻译, 在基因表达调控和修饰中发挥关键作用。这种作用广泛存在于生物体的基因转录、信号传导及细胞周期代谢等生理过程中, 并参与多种疾病的发生和发展过程。在不同的疾病, miRNA 的表达谱不同; 同一种疾病, 在不同的组织及不同的病情进程中, miRNA 的表达谱也不同。miRNA 表达的这种时序

性及组织特异性等特点, 使得其成为了用于某些疾病诊断和治疗的新宠。在神经系统中, miRNA 通过调节相关基因表达参与学习、记忆、神经元重构及神经变性疾病的发生发展^[9,10]。神经病理性疼痛时, 疼痛相关躯体感觉系统紊乱, 引起神经胶质细胞的激活、炎症递质释放、神经重构、中枢去抑制、中枢及外周敏化等^[10-12]。近期研究显示海马在神经病理性疼痛的发生发展过程中发挥着重要作用。神经病理性疼痛可引起海马的体积萎缩、细胞因子表达异常、突触长时程增强受损、记忆功能受损以及焦虑、抑郁等情绪障碍^[13-16], 但其所涉及的海马 miRNAs 表达变化尚无相关研究报道。

本研究以假手术组和 L5-SNT 神经病理性疼痛模型组大鼠海马组织为研究对象,采用 miRNA 测序技术分析海马 miRNAs 的差异性表达谱,总共筛选出 53 个显著差异表达 miRNAs,分为 25 个显著下调和 28 个显著上调,其中 rno-miR-541-3p、rno-miR-30c-2-3p、rno-miR-370-3p、rno-miR-22-3p 等表达显著下调,rno-miR-32-5p 表达显著上调。对这些差异性表达 miRNAs 的靶基因进行预测,找出了与海马神经病理性疼痛有关的靶基因有 *Mapk14*、*Camk2b*、*Ntrk2*、*Cxcl12*。功能分析提示这些靶基因与丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路、长时程增强(LTP)、炎症反应及细胞周期有关。

MAPK 信号通路是生物信号在细胞内外之间传递的重要途径,在基因表达调控和细胞质功能活动中发挥关键作用,参与细胞的生长、增殖、分化和凋亡等生理进程,并与炎症及应激反应有关。p38MAPK 通路是 MAPK 信号通路中的一条重要通路,主要参与机体的炎症、应激及细胞凋亡等生物进程,与神经病理性疼痛的形成和维持密切相关^[7]。*Mapk14* 是 p38MAPK 的编码基因,神经病理性疼痛动物的背根神经节和脊髓的神经元及胶质细胞内 ERK/p38MAPK 信号系统激活,经 ERK 酶抑制剂治疗后,外周和中枢敏化过程明显减弱、动物的疼痛缓解^[18]。*Mapk14* 是 miR-541-3p 及 miR-22-3p 的靶基因。在本研究中,神经病理性疼痛大鼠海马 miR-541-3p 和 miR-22-3p 的显著下调,可能通过 p38MAPK 信号通路的激活,参与疼痛的形成和维持。此外,p38MAPK 通路的激活还可引起 LTP 的减弱^[9]。LTP 是检验突触可塑性的重要模型,与学习及记忆形成直接相关,其受损会直接引起记忆形成障碍^[20]。 Ca^{2+} 钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II(CaMKII)对学习、记忆及神经元的可塑性都起着重要的调节作用^[21]。 Ca^{2+} 可通过 NMDA 受体激活 CaMKII 参与 LTP 的调节,从而影响记忆的形成^[22,23]。*Camk2b* 是 CaMKII 的编码基因,是 miR-30c-2-3p 的靶基因,miR-30c-2-3p 下调可能通过 CaMKII 的激活,从而影响神经病理性疼痛大鼠的记忆形成。

研究表明神经病理性疼痛时,中枢神经系统胶质细胞激活并释放的炎症因子及趋化因子所引起神经炎症反应是神经病理性疼痛发病的主要机制之一^[24]。功能分析显示 *Cxcl12* 是 miR-30c-2-3p 和 miR-22-3p 的靶基因,其所编码的固定趋化因子 CXCL12 是体液免疫反应必要组成部分^[25]。CXCL12 及其受体 CXCR4 所形成的 CXCL12/CXCR4 轴广泛分布于中枢神经系统内,除具有调节细胞迁移作用外,还具有神经调节作用^[26]。在成熟的神经系统内,CXCL12 可调节神经传导、神经毒性反应以及神经胶质相互作用,帮助建立和维持中枢神经系统的稳态^[26]。CXCL12/CXCR4 的表达下调可抑制脊髓胶质细胞的激活,从而减轻缺血再灌注所引起的炎症疼痛^[27]。显微镜下对大鼠杏仁核注射 CXCL12 可引起大鼠的焦虑行为,当注入 CXCR4 受体抑制剂或用 shRNAs 阻断 CXCR4 的表达时,大鼠的焦虑行为缓解,这说明 CXCL12/CXCR4 还与焦虑形成有关^[28]。在本研究中发现 miR-30c-2-3p 和 miR-22-3p 的下调,可能通过影响 CXCL12/CXCR4 而导致疼痛和焦虑行为。神经病理性疼痛患者还常伴有抑郁症状。*Ntrk2* 是精神疾病的易感基因,与情绪唤醒及维持脑白质的完整性有关^[29]。临床研究表明,在中国汉族人中,*BDNF* 和 *NTRK2* 基因的多态性是抑郁患者进展为难治性抑郁症的主要原因^[30]。miR-370-3p 的下调可能影响其靶基因 *Ntrk2* 的表达,从而引起抑郁症状。目前,尚无

miR-32-5p 在神经系统作用的研究,基因功能富集推测 miR-32-5p 可能与细胞的生长、增殖、分化和凋亡等生理过程有关,miR-32-5p 的表达上调可能会引起海马细胞周期紊乱,从而导致其功能障碍。

本研究所测得的神经病理性疼痛大鼠海马差异性表达 miRNA 及其靶基因,可能与海马的功能改变有关,通过调控相关 miRNAs 的表达,有可能缓解神经病理性疼痛和所伴随的记忆障碍、焦虑、抑郁等症状,为其治疗提供新方向。但因为哺乳动物的 miRNA 与其靶 mRNA 是通过不完全互补的方式结合,所以很多时候生物信息学的方法对其靶基因的预测有较多的不确定性,还需要用实验的方法对其确切的相互作用进行验证。

参考文献(References)

- [1] Jensen TS, Baron R, Haanpää M, et al. A new definition of neuropathic pain[J]. *Pain*, 2011, 152(10): 2204-2205
- [2] van Hecke O, Austin SK, Khan RA, et al. Neuropathic pain in the general population: a systematic review of epidemiological studies[J]. *Pain*, 2014, 155(4): 654-662
- [3] Finnerup NB, Attal N, Haroutounian S, et al. Pharmacotherapy for neuropathic pain in adults: a systematic review and meta-analysis[J]. *Lancet Neurol*, 2015, 14(2): 162-173
- [4] Moore RA, Straube S, Aldington D. Pain measures and cut-offs - 'no worse than mild pain' as a simple, universal outcome[J]. *Anaesthesia*, 2013, 68(4): 400-412
- [5] Chen SP, Kan Y, Zhang JL, et al. Involvement of hippocampal acetylcholinergic receptors in electroacupuncture analgesia in neuropathic pain rats[J]. *Behav Brain Funct*, 2016, 12(1): 13
- [6] Liu MG, Chen J. Roles of the hippocampal formation in pain information processing[J]. *Neurosci Bull*, 2009, 25(5): 237-266
- [7] Kim SH, Chung JM. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat [J]. *Pain*, 1992, 50(3): 355-363
- [8] Dixon aJW. The Up-and-Down Method for Small Samples [J]. *J Am Stat Assoc*, 1965, 312(60): 967
- [9] Da SFC, Iop RD, Vietta GG, et al. microRNAs involved in Parkinson's disease: A systematic review[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(5): 4015-4022
- [10] Bredy TW, Lin Q, Wei W, Baker-Andresen D, Mattick JS. MicroRNA regulation of neural plasticity and memory [J]. *Neurobiol Learn Mem*, 2011, 96(1): 89-94
- [11] Liu F, Yuan H. Role of glia in neuropathic pain [J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2014, 19: 798-807
- [12] Im YB, Jee MK, Choi JI, et al. Molecular targeting of NOX4 for neuropathic pain after traumatic injury of the spinal cord [J]. *Cell Death Dis*, 2012, 3: e426
- [13] Zimmerman ME, Pan JW, Hetherington HP, et al. Hippocampal correlates of pain in healthy elderly adults: a pilot study [J]. *Neurology*, 2009, 73(19): 1567-1570
- [14] Chen Y, Chen AQ, Luo XQ, et al. Hippocampal NR2B-containing NMDA receptors enhance long-term potentiation in rats with chronic visceral pain[J]. *Brain Res*, 2014, 1570: 43-53
- [15] Del RA, Yau HJ, Randolph A, et al. Chronic neuropathic pain-like behavior correlates with IL-1 β expression and disrupts cytokine interactions in the hippocampus[J]. *Pain*, 2011, 152(12): 2827-2835

- 2011, 15(6): 1607-1638
- [7] Ferjancic S, Gil-Bernabe A M, Hill S A, et al. VCAM-1 and VAP-1 recruit myeloid cells that promote pulmonary metastasis in mice [J]. *Blood*, 2013, 121(16): 3289-3297
- [8] Song K, Zhu F, Zhang H, et al. Tumor necrosis factor- α enhanced fusions between oral squamous cell carcinoma cells and endothelial cells via VCAM-1/VLA-4 pathway [J]. *Experimental Cell Research*, 2012, 318(14): 1707-1715
- [9] Hu Y, Lin X, Wang P, et al. CRM197 in Combination With shRNA Interference of VCAM-1 Displays Enhanced Inhibitory Effects on Human Glioblastoma Cells[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2015, 230(8): 1713-1728
- [10] Gallicchio M, Rosa A C, Dianzani C, et al. Celecoxib decreases expression of the adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 in a colon cancer cell line (HT29)[J]. *British Journal of Pharmacology*, 2008, 153(5): 870-878
- [11] Leussink V I, Zettl U K, Jander S, et al. Blockade of signaling via the very late antigen (VLA-4) and its counterligand vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) causes increased T cell apoptosis in experimental autoimmune neuritis [J]. *Acta Neuropathol*, 2002, 103(2): 131-136
- [12] Ishiyama N, Kitagawa M, Takahashi H, et al. Expression of VCAM-1 in lymphocytes during the process of apoptosis [J]. *Pathobiology*, 1998, 66(6): 274-283
- [13] Wu X, Guo R, Chen P, et al. TNF induces caspase-dependent inflammation in renal endothelial cells through a Rho- and myosin light chain kinase-dependent mechanism[J]. *AJP: Renal Physiology*, 2009, 297(2): F316-F326
- [14] Tian X, Zhao L, Song X, et al. HSP27 Inhibits Homocysteine-Induced Endothelial Apoptosis by Modulation of ROS Production and Mitochondrial Caspase-Dependent Apoptotic Pathway [J]. *BioMed Research International*, 2016, 2016: 1-9
- [15] Zhang D, Yuan D, Shen J, et al. Up-regulation of VCAM1 Relates to Neuronal Apoptosis After Intracerebral Hemorrhage in Adult Rats[J]. *Neurochemical Research*, 2015, 40(5): 1042-1052
- [16] Liu F, Jiang Y, Zhao H, et al. Electroacupuncture ameliorates cognitive impairment and regulates the expression of apoptosis-related genes Bcl-2 and Bax in rats with cerebral ischaemia-reperfusion injury [J]. *Acupuncture in Medicine*, 2015, 33(6): 478-484
- [17] Chen H, Zhang J, Gao Y, et al. Sensitive cell apoptosis assay based on caspase-3 activity detection with graphene oxide-assisted electrochemical signal amplification [J]. *Biosens Bioelectron*, 2015, 68: 777-782
- [18] Furtek S L, Backos D S, Matheson C J, et al. Strategies and Approaches of Targeting STAT3 for Cancer Treatment [J]. *ACS Chemical Biology*, 2016, 11(2): 308-318
- [19] Lin L, Hutzen B, Li P K, et al. A novel small molecule, LLL12, inhibits STAT3 phosphorylation and activities and exhibits potent growth-suppressive activity in human cancer cells [J]. *Neoplasia*, 2010, 12(1): 39-50
- [20] Saini U, Naidu S, ElNaggar A C, et al. Elevated STAT3 expression in ovarian cancer ascites promotes invasion and metastasis: a potential therapeutic target[J]. *Oncogene*, 2017, 36(2): 168-181
- [21] Bixel K, Saini U, Kumar Bid H, et al. Targeting STAT3 by HO3867 induces apoptosis in ovarian clear cell carcinoma [J]. *International Journal of Cancer*, 2017, 141(9): 1856-1866

(上接第 1632 页)

- [16] Berryman C, Stanton TR, Jane BK, et al. Evidence for working memory deficits in chronic pain: a systematic review and meta-analysis[J]. *Pain*, 2013, 154(8): 1181-1196
- [17] Lin X, Wang M, Zhang J, et al. p38 MAPK: a potential target of chronic pain[J]. *Curr Med Chem*, 2014, 21(38): 4405-4418
- [18] Zhuang ZY, Gerner P, Woolf CJ, et al. ERK is sequentially activated in neurons, microglia, and astrocytes by spinal nerve ligation and contributes to mechanical allodynia in this neuropathic pain model[J]. *Pain*, 2005, 114(1-2): 149-159
- [19] Crisuolo C, Fabiani C, Bonadonna C, et al. BDNF prevents amyloid-dependent impairment of LTP in the entorhinal cortex by attenuating p38 MAPK phosphorylation [J]. *Neurobiol Aging*, 2015, 36(3): 1303-1309
- [20] Nicoll RA. A Brief History of Long-Term Potentiation [J]. *Neuron*, 2017, 93(2): 281-290
- [21] Shonesy BC, Jalan-Sakrikar N, Cavener VS, et al. CaMKII: a molecular substrate for synaptic plasticity and memory [J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2014, 122: 61-87
- [22] Lisman J, Yasuda R, Raghavachari S. Mechanisms of CaMKII action in long-term potentiation[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2012, 13(3): 169-182
- [23] Lisman J, Raghavachari S. Biochemical principles underlying the stable maintenance of LTP by the CaMKII/NMDAR complex [J]. *Brain Res*, 2015, 1621: 51-61
- [24] Stern P. Glial cells contribute to pain [J]. *Science*, 2016, 354(6316): 1114-1115
- [25] Barinov A, Luo L, Gasse P, et al. Essential role of immobilized chemokine CXCL12 in the regulation of the humoral immune response[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(9): 2319-2324
- [26] Li M, Ransohoff RM. Multiple roles of chemokine CXCL12 in the central nervous system: a migration from immunology to neurobiology [J]. *Prog Neurobiol*, 2008, 84(2): 116-131
- [27] Li XQ, Zhang ZL, Tan WF, et al. Down-Regulation of CXCL12/CXCR4 Expression Alleviates Ischemia-Reperfusion-Induced Inflammatory Pain via Inhibiting Glial TLR4 Activation in the Spinal Cord[J]. *PLoS One*, 2016, 11(10): e0163807
- [28] Yang L, Wang M, Guo YY, et al. Systemic inflammation induces anxiety disorder through CXCL12/CXCR4 pathway [J]. *Brain Behav Immun*, 2016, 56: 352-362
- [29] Spalek K, Coynel D, Freytag V, et al. A common NTRK2 variant is associated with emotional arousal and brain white-matter integrity in healthy young subjects[J]. *Transl Psychiatry*, 2016, 6: e758
- [30] Li Z, Zhang Y, Wang Z, et al. The role of BDNF, NTRK2 gene and their interaction in development of treatment-resistant depression: data from multicenter, prospective, longitudinal clinic practice [J]. *J Psychiatr Res*, 2013, 47(1): 8-14