

研究论文

芬太尼经中间神经元减弱吹风刺激诱发的小鼠小脑分子层场电位反应

詹丽杰[#], 杨熠[#], 杨贺旻, 初春平, 邱德来, 兰艳^{*}

延边大学医学院生理学与病理生理学教研室, 延吉 133002

摘要: 芬太尼作为一种合成的阿片类药物, 可与 μ 型阿片受体(mu-opioid receptor, MOR)结合产生镇痛、镇静及奖赏相关的行为。小脑的功能不仅局限于对躯体平衡、肌张力和随意运动的调节, 还有情绪调节、认知和学习记忆等功能。有研究表明, 小脑中广泛分布着功能性的MOR, 但其对小脑功能的影响还未见报道。本文旨在采用在体电生理学方法研究枸橼酸芬太尼对同侧触须垫吹风刺激诱发的小鼠小脑分子层场电位反应的影响。结果显示, 小脑表面灌注 $5\ \mu\text{mol/L}$ 芬太尼可使吹风刺激诱发的小脑分子层场电位反应中正向波(P1)的振幅、半宽和曲线下面积显著降低, 对P1振幅的半数有效抑制浓度为 $4.21\ \mu\text{mol/L}$ 。芬太尼的这种抑制效应可被MOR特异性阻断剂CTOP所阻断。单独给予CTOP则增加P1的振幅和曲线下面积。芬太尼还可显著抑制分子层中间神经元(molecular layer interneurons, MLIs)自发和诱发的放电数目。以上结果表明, 芬太尼可减弱吹风刺激诱发的分子层场电位反应, 其机制可能与芬太尼通过作用于MOR抑制MLIs的自发和诱发放电活动有关。

关键词: 芬太尼; μ 型阿片受体; 分子层中间神经元; 感觉刺激; 在体电生理

中图分类号: R338

Fentanyl attenuates air-puff stimulus-evoked field potential response in the cerebellar molecular layer via inhibiting interneuron activity in mice

ZHAN Li-Jie[#], YANG Yi[#], YANG He-Min, CHU Chun-Ping, QIU De-Lai, LAN Yan^{*}

Department of Physiology and Pathophysiology, College of Medicine, Yanbian University, Yanji 133002, China

Abstract: Fentanyl as a synthetic opioid works by binding to the mu-opioid receptor (MOR) in brain areas to generate analgesia, sedation and reward related behaviors. As we know, cerebellum is not only involved in sensory perception, motor coordination, motor learning and precise control of autonomous movement, but also important for the mood regulation, cognition, learning and memory. Previous studies have shown that functional MORs are widely distributed in the cerebellum, and the role of MOR activation in cerebellum has not been reported. The aim of the present study was to investigate the effects of fentanyl on air-puff stimulus-evoked field potential response in the cerebellar molecular layer using *in vivo* electrophysiology in mice. The results showed that perfusion of $5\ \mu\text{mol/L}$ fentanyl on the cerebellar surface significantly inhibited the amplitude, half width and area under the curve (AUC) of sensory stimulation-evoked inhibitory response P1 in the molecular layer. The half-inhibitory concentration (IC_{50}) of the fentanyl-induced suppression of P1 amplitude was $4.21\ \mu\text{mol/L}$. The selective MOR antagonist CTOP abolished fentanyl-induced inhibitory responses in the molecular layer. However, application of CTOP alone increased the amplitude and AUC of P1. Notably, fentanyl significantly inhibited the tactile stimulation-evoked response of molecular layer interneurons (MLIs) and the spontaneous firing of MLIs. The results suggest that fentanyl attenuates air-puff stimulus-evoked field potential response in the cerebellar molecular layer via binding to MOR to restrain the spontaneous and evoked firing of MLIs.

Key words: fentanyl; μ -opioid receptors; cerebellar molecular layer interneuron; sensory stimulation; *in vivo* electrophysiology

Received 2020-02-11 Accepted 2020-04-16

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81560231, 81860251), “13th Five-Year” Science and Technology Project of Department of Education, Jilin Province (No. JJKH20200526KJ) and the open funds of the State Key Laboratory of Medical Neurobiology, Fudan University, China.

[#]These authors contributed equally to this work.

^{*}Corresponding author. Tel: +86-433-2435052; E-mail: lanyan@ybu.edu.cn

枸橼酸芬太尼作为一种合成的阿片类镇痛药物,其镇痛效果约为吗啡的 100 倍而副作用更小,因此临床上被广泛应用于镇静、镇痛、麻醉以及为癌症患者提供人道主义镇痛^[1]。芬太尼通过与阿片受体结合而发挥药理学效应。研究表明,枸橼酸芬太尼与 δ 型阿片受体 (δ -opioid receptor) 和 κ 型阿片受体 (κ -opioid receptor) 的亲和力较低,主要与 μ 型阿片受体 (μ -opioid receptor, MOR) 结合,是一种比较强的 MOR 激动剂^[2]。MOR 属于 G 蛋白耦联受体 (G-protein-coupled receptor, GPCR),在介导与阿片类药物相关的包括镇痛和欣快感在内的药理学效用中发挥关键作用^[3]。活化 MOR 会引起神经细胞兴奋性降低,神经冲动传递和神经递质释放减少^[4,5]。

哺乳动物小脑的功能不仅局限于对躯体平衡、肌张力和随意运动的调节,还有情绪调节、认知、学习记忆等功能^[6]。小脑左右对称,皮层由表及里显示出清晰的三层结构^[7]。最外层为分子层,包括浦肯野细胞 (Purkinje cell, PC) 的树突及分子层中间神经元 (molecular layer interneurons, MLIs); 中间为 PC 层,主要由 PC 胞体构成;最内层是由颗粒细胞 (granule cell, GC) 和高尔基细胞 (Golgi cell, GoC) 构成的颗粒层。上升的 GC 轴突分叉形成兴奋性的平行纤维 (parallel fiber, PF),与唯一的传出神经元 PC 形成突触联系。MLIs 包括篮状细胞 (basket cell, BC) 和星型细胞 (stellate cell, SC),在小脑皮层的感受信息处理中起重要作用。SC 和 BC 都接收来自 PF 的兴奋性输入和来自其他中间神经元的抑制性输入,并诱导 PC 产生 GABA 能抑制。本课题组前期研究显示,小鼠触须垫吹风刺激可激活同侧 PCs 产生 GABA 能抑制,并诱导 MLIs 的快速兴奋和对小脑皮质中 Crus II 区 PCs 感受信息传递的抑制^[8]。

免疫组织化学和荧光原位杂交显示,在新生 (P6) 以及成年大鼠 PCs 和小脑皮质 GC 层及 MLIs 均存在 MOR 的 mRNA 表达^[9]。大量研究表明, MOR 影响 GABA 能突触传递^[10,11]。而活化 MOR 在小脑皮质感受信息传递中的作用还未见报道。因此,本文旨在研究枸橼酸芬太尼对感受刺激诱发的小鼠小脑分子层场电位反应的影响,探讨活化 MOR 在小鼠小脑分子层感受信息传递中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 选用 6~8 周龄的雄性昆明小鼠,

体重为 18~30 g,由延边大学实验动物中心提供,许可证号为 SCXK (吉 2011-0007)。分笼饲养,动物室温度为 $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$,湿度为 $(55 \pm 5)\%$,自由摄食、饮水。动物饲养以及实验方案均获得延边大学伦理委员会批准。

1.1.2 主要试剂 枸橼酸芬太尼注射液购自湖北宜昌人福药业有限公司;CTOP (MOR 拮抗剂) 购于 Sigma 公司。所有试剂使用时均用人工脑脊液 (artificial cerebrospinal fluid, ACSF) 稀释至相应浓度后在小脑表面灌流。

1.2 方法

1.2.1 实验动物准备 小鼠经乌拉坦 (20%, 1.3 g/kg) 行阶段性腹腔注射麻醉,待角膜无反射后,将其固定在脑立体定位仪上。剪开头部皮肤,钝性剥离暴露出颅骨,参照小鼠脑立体定位图谱^[12],在小脑 Crus II 区开一个直径为 1~1.5 mm 小孔,小心去除硬脑膜,立即对手术区域使用蠕动泵 (MiniPuls 3, Gilson, France) 持续灌流含有氧气的 ACSF。将脑立体定位仪和小鼠放置在显微镜 (Nikon FN1, Japan) 下,观察并找到触须垫刺激同侧的分子层进行电生理记录^[8]。整个实验中,小鼠体温保持在 $(37.0 \pm 0.2)^\circ\text{C}$ 。

1.2.2 吹风刺激 刺激方法与本课题组之前发表的文献一致^[13,14]。吹风刺激 (60 ms, 60 psi) 系统由一台微量注射仪 (Picospritzer III, Park, USA)、多通道刺激器 (Master 8, Israel) 和计算机 (Acer, China) 组成。根据需要的刺激时间、频率、间隔和次数等在 Master 8 上编写刺激程序,刺激部位为小鼠同侧触须垫。

1.2.3 分子层场电位及细胞放电记录 与本课题组之前报道^[13,14]一致,采用 Axopatch-200B 的膜片钳放大器和 Clampfit 10.4 软件 (Molecular Device, USA) 记录分子层场电位。将控制好的记录电极 (使用的材料为细玻璃管:外径:1.5 mm; Narishige, Japan) 内充装 ACSF 20~30 μL ,电极阻抗的范围控制在 3~5 M Ω 。将记录电极安装在微操作器 (Sutter, USA) 上,显微镜 (Nikon Eclipse E600FN, Japan) 下观察电极移动的位置。通过微操作器将电极缓慢刺入软脑膜下约 100 μm ,到达分子层 (图 1),给予同侧触须垫吹风刺激 (60 ms, 60 psi)。MLIs 的放电活动则采用细胞贴附式记录。感受刺激诱发的场电位通过 Digidata 1440 A/D 数模转换器、Clampfit 10.4 软件和计算机进行采集,记录到的是具有 2 kHz 滤

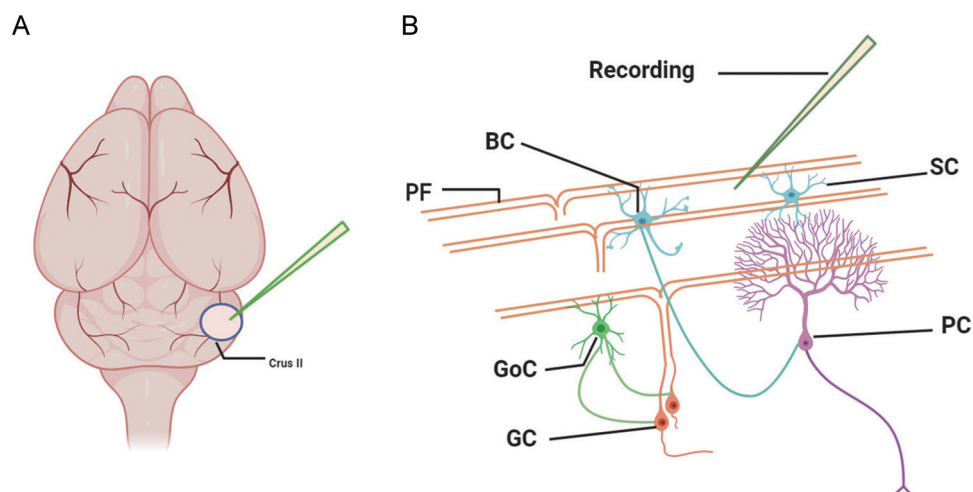


图 1. 分子层场电位记录示意图

Fig. 1. Schematic diagram showing the recording of field potential in the cerebellar molecular layer. *A*: The recording electrodes were placed on the molecular layer of Crus II in cerebellum. *B*: The enlarge schematic of the cerebellar cortex structure and the position of recording electrodes in the cerebellar molecular layer. BC: basket cell; SC: stellate cell; PF: parallel fiber; GC: granule cell; GoC: Golgi cell; PC: Purkinje cell.

波频率和 100 倍增益的信号。实验数据需要在基线稳定、记录过程完整的情况下用于统计分析。实验结束后，将小鼠断头、取脑、染色，以确定记录位置。

1.2.4 统计分析和方法 采用 Clampfit 10.4 软件对电生理数据进行分析。数据以 $\text{mean} \pm \text{SEM}$ 表示，用 SPSS 17.0 软件对数据进行统计学分析，采用配对 *t* 检验和单因素方差分析 (one-way ANOVA) 进行组间比较， $P < 0.05$ 时认为差异有统计学显著性。

2 结果

2.1 芬太尼浓度依赖性地抑制吹风刺激诱发的分子层场电位反应

与前期研究^[13]一致，给予同侧触须垫吹风刺激 (60 ms, 60 psi)，可在分子层诱导出一个包含瞬间负向成分 (N1) 和一个由 GABA 介导的正向成分 (P1) 的反应波 (图 2A)。有研究指出，啮齿类动物小脑中存在功能性的 MOR^[15]。小脑表面给予 5 $\mu\text{mol/L}$ 芬太尼灌流 10 min，发现芬太尼可显著降低 P1 的振幅 ($n = 6$, $P < 0.001$; 图 2A, B)。P1 的半宽 (half-width) ($P = 0.04$; 图 2C) 和曲线下面积 (area under curve, AUC) ($P < 0.001$, 图 2D; $n = 6$) 与给药前相比均显著降低。

芬太尼对吹风刺激诱发的分子层场电位反应 P1 振幅的影响具有浓度依赖性。如图 3 所示，导致 P1 振幅显著抑制的芬太尼最低有效剂量为 500 nmol/L

[给药后降低至给药前的 $(0.21 \pm 1.60)\%$, $n = 5$; $P < 0.05$]，其半数有效抑制浓度 (half-inhibitory concentration, IC_{50}) 为 4.21 $\mu\text{mol/L}$ 。当芬太尼浓度增加至 50 $\mu\text{mol/L}$ 时，吹风刺激不能诱导出分子层场电位的抑制性反应。

为进一步明确芬太尼对吹风刺激诱发的分子层场电位反应 P1 的抑制作用是否通过 MOR 起作用，我们在小脑表面联合灌流 CTOP (MOR 特异性拮抗剂) 和芬太尼的混合溶液。图 4A 显示联合给予芬太尼和 CTOP 混合溶液可翻转芬太尼对吹风刺激诱发的分子层场电位 P1 的抑制反应，与芬太尼组相比，ACSF 组和芬太尼与 CTOP 混合溶液组的振幅 ($P < 0.001$)、半宽 ($P = 0.02$) 和 AUC ($P < 0.001$) 均明显增高。图 4B 显示在 CTOP 存在条件下，联合给予 CTOP 和芬太尼混合液同样可阻断芬太尼引起的吹风刺激诱发的分子层场电位反应 P1 的抑制。实验结果表明，与 ACSF 组比较，单独给予 CTOP 会使 P1 的振幅 ($P = 0.008$) 和 AUC ($P = 0.027$) 明显增加，而半宽略有增高 ($P > 0.05$)。联合给予 CTOP 和芬太尼混合液时，与单独灌流 CTOP 时相比，P1 的振幅 ($P = 0.025$) 和 AUC ($P = 0.013$) 明显降低，对半宽没有影响 ($P > 0.05$)。这一结果提示，芬太尼对吹风刺激诱发的场电位 P1 的抑制与 MOR 有关。本研究组前期研究显示，分子层场电位 P1 可反映 MLIs 到 PCs 的突触传递过程^[8]。单独灌流

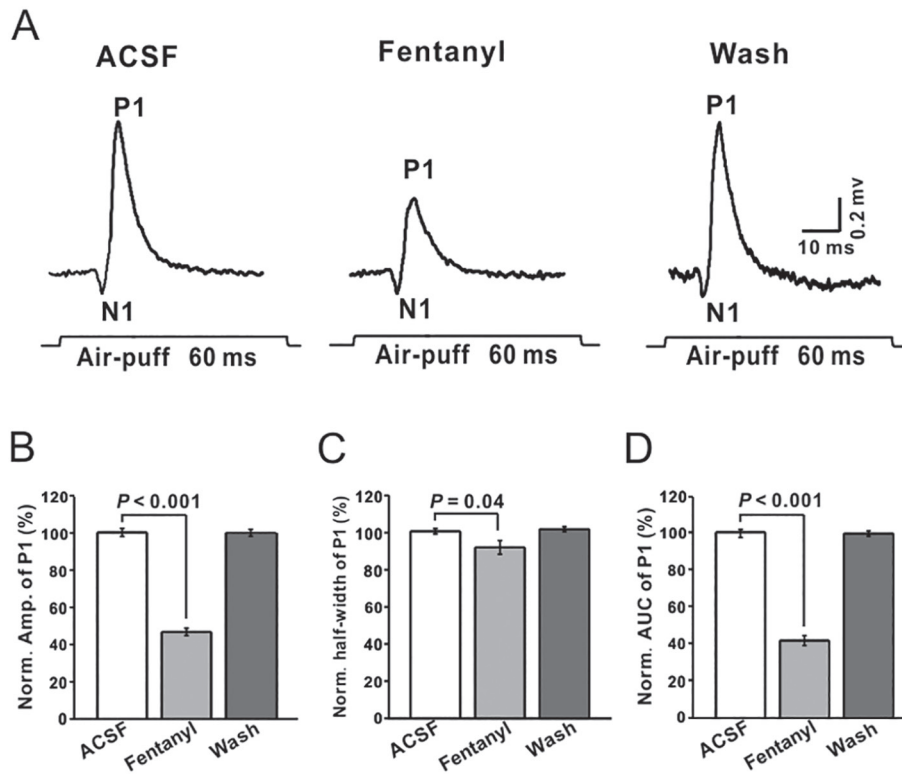


图 2. 芬太尼对吹风刺激诱发的分子层场电位反应的影响

Fig. 2. Effect of fentanyl on air-puff stimulus-evoked field potential responses in the cerebellar molecular layer. *A*: Representative field potential recording traces showing the air-puff stimulus-evoked responses in artificial cerebrospinal fluid (ACSF), fentanyl (5 $\mu\text{mol/L}$) and washout. *B*, *C*, *D*: Summary of data showing the normalized (Norm) amplitude (Amp, *B*), half-width (*C*) and area under curve (AUC, *D*) of P1 in ACSF, fentanyl (5 $\mu\text{mol/L}$) and washout ($n = 6$). Mean \pm SEM.

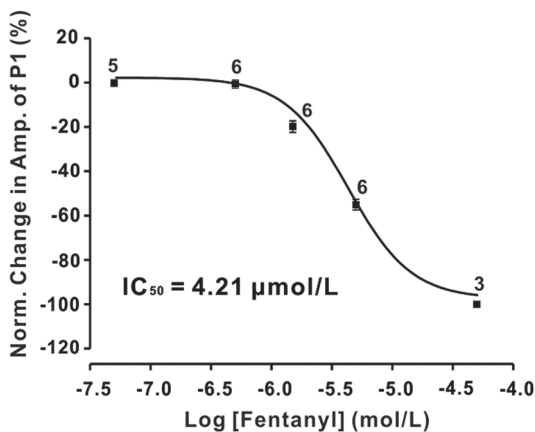


图 3. 芬太尼引起P1幅值降低的浓度依赖曲线

Fig. 3. Concentration-response curve showing the fentanyl-induced decrease in amplitude of P1 ($\text{IC}_{50} = 4.21 \mu\text{mol/L}$). The number of field potential examined at each concentration is indicated near the respective bars.

CTOP 引起 P1 振幅和 AUC 增高, 提示在 MLIs 到 PCs 的突触中有内源性阿片肽的存在, 内源性阿片

肽可抑制吹风刺激引起的 MLIs 到 PCs 的突触传递。

2.2 芬太尼抑制吹风刺激诱发的 MLIs 放电反应

大量文献表明, MOR 多位于 GABA 能神经元上^[10, 11]。芬太尼对 P1 的抑制是否与 MLIs 的活动有关呢? 我们进一步采用细胞贴附式记录方法检测了芬太尼对乌拉坦麻醉小鼠小脑 Crus II 区 MLIs 自发性和诱发性放电的影响。如图 5 所示, 吹风刺激触须垫可诱发 MLIs 放电 (图 5Aa)。小脑表面灌流芬太尼 (5 $\mu\text{mol/L}$) 10 min, MLIs 自发放电数目 ($P < 0.001$, $n = 6$, 图 5Ab) 和诱发放电数目 ($P < 0.001$, $n = 6$, 图 5Ac) 均明显减少。CTOP (5 $\mu\text{mol/L}$) 可以阻断芬太尼对 MLIs 自发放电活动和吹风刺激诱发放电活动的抑制 (图 5B)。在 CTOP 存在条件下, 再给予芬太尼和 CTOP 的混合溶液, MLIs 的自发和诱发放电数目与对照组相比均无明显差别。这些数据提示芬太尼可能通过抑制小脑 MLIs 的活动, 导致吹风刺激诱发的分子层场电位反应 P1 的降低, 该效应可被 MOR 阻断剂 CTOP 阻断。

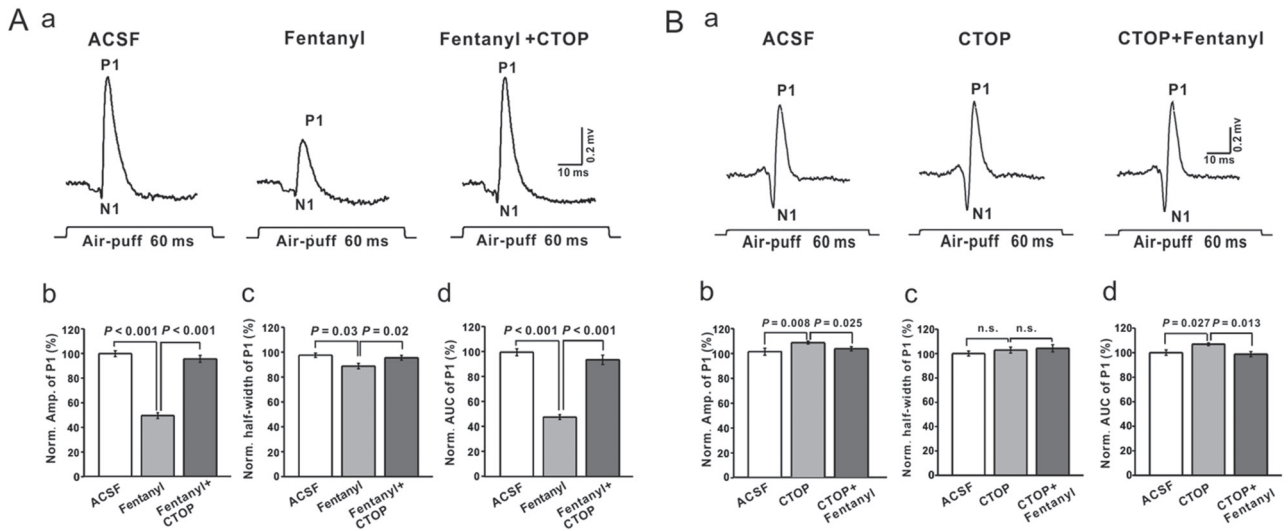


图 4. MOR拮抗剂CTOP阻断芬太尼对分子层电位反应的抑制

Fig. 4. The MOR antagonist CTOP abolishes fentanyl-mediated inhibition of facial stimulus-evoked response in the cerebellar molecular layer. *A*: Example responses in the molecular layer to air-puff stimulus (60 ms, 60 psi) in ACSF, fentanyl (5 μ mol/L), and fentanyl (5 μ mol/L) + CTOP (5 μ mol/L) (*a*). *b*, *c*, *d*: Bar graph showing the normalized amplitude (*b*), half-width (*c*) and area under curve (AUC, *d*) of P1 in ACSF, fentanyl and fentanyl + CTOP ($n = 6$). *B*: Example responses in the molecular layer to air-puff stimulus (60 ms, 60 psi) in ACSF, CTOP (5 μ mol/L), and CTOP (5 μ mol/L) + fentanyl (5 μ mol/L) (*a*). *b*, *c*, *d*: Bar graph showing the normalized amplitude (*b*), half-width (*c*) and AUC (*d*) of P1 in ACSF, CTOP and CTOP + fentanyl ($n = 6$). Mean \pm SEM. n.s.: not significant.

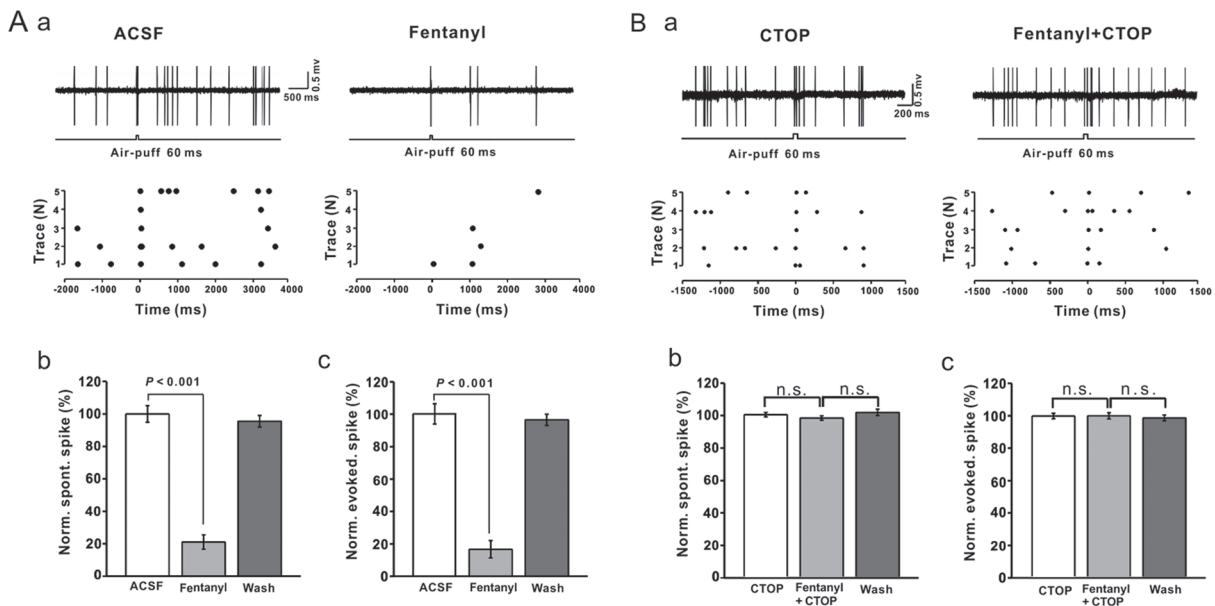


图 5. 芬太尼抑制吹风刺激诱发的MLIs反应

Fig. 5. Fentanyl depresses air-puff stimulus-evoked responses in cerebellar MLIs. *A*: *a*: Upper, example of cell-attached recordings from an MLI showing responses to air-puff stimulus (60 ms, 60 psi) in ACSF and fentanyl (5 μ mol/L); lower, the master plot of spike events originate from traces of the upper panel. *b*: Summarized results showing the normalized number of spontaneous firings in ACSF and fentanyl (5 μ mol/L, $n = 6$). *c*: Summarized results showing the normalized number of the tactile-evoked firings in ACSF and fentanyl (5 μ mol/L, $n = 6$). *B*: *a*: Upper, example of cell-attached recordings from an MLI showing responses to air-puff stimulus (60 ms, 60 psi) in CTOP (5 μ mol/L) and fentanyl (5 μ mol/L) + CTOP (5 μ mol/L); lower, the master plot of spike events originate from traces of the upper panel. *b*: Summarized results showing the normalized number of spontaneous firings in CTOP (5 μ mol/L) and CTOP (5 μ mol/L) + fentanyl (5 μ mol/L, $n = 6$). *c*: Summarized results showing the normalized number of the tactile-evoked firings in CTOP (5 μ mol/L) and CTOP (5 μ mol/L) + fentanyl (5 μ mol/L, $n = 6$). Mean \pm SEM. n.s.: not significant.

3 讨论

据报道, MOR 广泛分布于中枢神经系统, 其在小脑中也有表达^[15, 16]。虽然以往有研究指出, 啮齿类动物小脑中 MOR 的分布较少或缺失, 但近年来人们通过免疫组织化学^[15]对 MOR mRNA 的组织特异性分布的研究, 在啮齿类动物小脑皮质的中间神经元及 PC 上都检测到 MOR 的 mRNA, 在新生 (P6) 大鼠的未成熟小脑的外部生发层中, MOR 的表达也十分丰富。临床上, 枸橼酸芬太尼作为一种 MOR 激动剂被广泛应用于临床镇痛, 但也存在成瘾和滥用的风险。美国国家卫生统计局 2017 年的统计结果显示 (<https://www.drugabuse.gov/related-topics/trends-statistics/overdose-death-rates>, accessed on 4 January 2019), 在美国, 有超过三分之二的药物过量死亡是阿片类药物引起的, 其中非法生产的芬太尼 (或其衍生物) 造成的死亡占比最多, 超过 50%, 且增长速度最快。因此, 深入阐明芬太尼在中枢神经系统中的作用, 对于预防其易成瘾和滥用的副作用有积极的意义。而小脑作为调节机体平衡、参与运动和学习的器官, 越来越受到研究者的重视。近年来的很多研究也显示, 小脑还具有调节情绪、认知等功能, 并且也参与奖赏行为的调节^[17]。因此, 探讨小脑中 MOR 激活对其功能的影响有着十分重要的意义。

本研究首先观察了芬太尼激活 MOR 后小鼠小脑分子层感觉信息传递的变化。实验结果显示, 小脑表面给予 MOR 激动剂芬太尼剂量依赖性地抑制感觉刺激诱发的小脑分子层场电位 P1 的振幅, MOR 特异性阻断剂 CTOP 可阻断芬太尼的作用。而本研究室前期工作已明确, 在分子层中场电位正向波 P1 主要由抑制性神经递质 GABA 所介导, 反映 MLIs-PCs 的突触传递过程^[13]。因此, 实验结果表明 MOR 在调节小鼠小脑分子层中 GABA 能的突触传递中起重要作用。这一结果也通过在体电生理学方法验证了 MOR 存在于小鼠小脑皮层 MLIs-PCs 的突触中。小脑分子层中, BC 和 SC 是 MLIs 的两种细胞类型, 二者都对 PCs 产生抑制。BC 对 PCs 的胞体产生抑制, 而 SC 则对 PC 的树突产生抑制, 分别对 PF 的兴奋性传入及实施胞体抑制^[10]。免疫组织化学研究表明, 中枢神经系统中的 GABA 能神经元中存在着大量的 MOR。阿片类药物通过抑制 GABA 能神经元的突触前释放, 导致神经元兴奋性降低, 这已在其他脑区得到证实^[18, 19]。为验证

芬太尼对吹风刺激诱发 GABA 能组分 P1 振幅的抑制作用是否是由于 MOR 激活对 MLIs 产生抑制, 从而导致 MLIs 释放 GABA 减少所引起, 我们又通过 MLIs 贴附式记录, 观察了芬太尼对 MLIs 自发和诱发放电反应的影响。结果显示, 小脑表面给予芬太尼时, MLIs 的自发和诱发放电数目明显减少。这一结果提示, 芬太尼对吹风刺激诱发的 MLIs-PCs 信息传递的抑制可能是通过抑制 MLIs 的放电活动, 导致 GABA 释放减少引起的。Miura 等报道, MOR 激动剂 DAMGO 可明显抑制电刺激诱发的纹状体中等大小细胞的抑制性突触后电位 (inhibitory postsynaptic potential, IPSP), 且与调节突触前 GABA 能神经元的活性有关^[11]。Griffioen 等也报道, 枸橼酸芬太尼可作用于心迷走神经上的 MOR, 通过减少 GABA 能神经传递而增加副交感神经的活性^[10]。

本研究结果还显示, 当小脑表面单独灌流 MOR 特异性拮抗剂 CTOP 时, 可使吹风刺激诱发的分子层反应 P1 的振幅与灌流 ACSF 时相比明显增加。这一结果提示, MLIs-PCs 的突触中可能存在内源性阿片肽^[20], 在生理状态下, 它们与 MOR 结合从而调节神经递质的释放。在 CTOP 作用下, 阻断了内源性阿片肽与 MOR 的结合, 对神经递质释放的抑制作用减弱, 表现出吹风刺激时 P1 的振幅增高。Venkatesan 等也报道, 内源性的痛敏肽和内啡肽都可作用于突触前 GABA 能神经元, 抑制递质释放^[21, 22]。

激活 MOR 抑制 GABA 能突触传递的机制现在还不清楚。MOR 是 GPCR, 其通常通过 Gi/o- α 亚基蛋白发出信号以抑制腺苷酸环化酶的活性, 从而减少 cAMP 的产生^[23]。也有报道指出, 芬太尼与 MOR 结合可通过 Gi/o 介导的信号通路, 抑制腺苷酸环化酶的激活和磷脂酰肌醇的活化, 降低 cAMP 和 IP3 的含量, 从而进一步降低细胞内 Ca^{2+} 信号, 而且 MOR 还可以抑制孤束核中 Ca^{2+} 通道^[24]。因此, 激活 MOR 也可能通过抑制 Ca^{2+} 通道的活性从而使 GABA 能神经递质的释放减少。激活 MOR 也可通过电压敏感性钙通道关闭或增强钾离子外流导致超极化而引起递质释放减少^[7]。有关激活 MOR 在抑制感觉刺激诱发的 MLIs-PCs 突触传递过程的机制, 还有待于进一步研究。

综上所述, 芬太尼可通过小脑 MOR 抑制 MLIs 的自发和诱发放电活动, 减弱吹风刺激诱发的小鼠小脑分子层感觉信息传递, 内源性阿片肽可抑制分

子层 MLIs-PCs 的信息传递。本研究结果为小脑参与镇痛和药物成瘾的机制提供了参考依据。

参考文献

- 1 El Aish KA, Tafish R, Zourob H. Morphine versus fentanyl for spinal post-caesarean analgesia: a randomised controlled trial. *Lancet* 2018; 391(Suppl) 2: S20.
- 2 Comer SD, Cahill CM. Fentanyl: receptor pharmacology, abuse potential, and implications for treatment. *Neurosci Biobehav Rev* 2019; 106: 49–57.
- 3 Gavériauxruff C, Kieffer BL. Opioid receptor genes inactivated in mice: the highlights. *Neuropeptides* 2002; 36(2–3): 62–71.
- 4 Pasternak GW, Pan YX. Mu opioids and their receptors: evolution of a concept. *Pharmacol Rev* 2013; 65(4): 1257–1317.
- 5 Trescot AM, Datta S, Lee M, Hansen H. Opioid pharmacology. *Pain Physician* 2008; 11(2): 133–53.
- 6 Yeganeh-Doost P, Gruber O, Falkai P, Schmitt A. The role of the cerebellum in schizophrenia: From cognition to molecular pathways. *Clinics (Sao Paulo)* 2011; 66(1): 71–77.
- 7 Han JS (韩济生). *Neuroscience*. 3rd ed. Beijing: Peking University Medical Press, 2009, 120–125 (in Chinese).
- 8 Chu CP, Bing YH, Liu H, Qiu DL. Roles of molecular layer interneurons in sensory information processing in mouse cerebellar cortex Crus II *in vivo*. *PLoS One* 2012; 7(5): e37031.
- 9 Mrkusich EM, Kivell BM, Miller JH, Day DJ. Abundant expression of mu and delta opioid receptor mRNA and protein in the cerebellum of the fetal, neonatal, and adult rat. *Brain Res Dev Brain Res* 2004; 148(2): 213–222.
- 10 Griffioen KJ, Venkatesan P, Huang ZG, Wang X, Bouairi E, Evans C, Gold A, Mendelowitz D. Fentanyl inhibits GABAergic neurotransmission to cardiac vagal neurons in the nucleus ambiguus. *Brain Res* 2004; 1007(1–2): 109–115.
- 11 Miura M, Masuda M, Aosaki T. Roles of micro-opioid receptors in GABAergic synaptic transmission in the striosome and matrix compartments of the striatum. *Mol Neurobiol* 2008; 37(2–3): 104–115.
- 12 Paxinos G, Franklin KBJ. *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates*. 2nd ed. San Diego, CA: Academic, 2001.
- 13 Chu CP, Bing YH, Qiu DL. Sensory stimulus evokes inhibition rather than excitation in cerebellar Purkinje cells *in vivo* in mice. *Neurosci Lett* 2011; 487(2): 182–186.
- 14 Chu CP, Bing YH, Liu QR, Qiu DL. Synaptic responses evoked by tactile stimuli in Purkinje cells in mouse cerebellar cortex Crus II *in vivo*. *PLoS One* 2011; 6(7): e22752.
- 15 Mansour A. Opioid-receptor mRNA expression in the rat CNS: Anatomical and functional implications. *Trends Neurosci* 1995; 18(1): 22–29.
- 16 Mansour A, Khachaturian H, Lewis ME, Akil H, Watson SJ. Anatomy of CNS opioid receptors. *Trend Neurosci* 1988; 11(7): 308–314.
- 17 Carta I, Chen CH, Schott AL, Dorizan S, Khodakhah K. Cerebellar modulation of the reward circuitry and social behavior. *Science* 2019; 363(6424): 1–10.
- 18 Bajo M, Madamba SG, Roberto M, Siggins GR. Acute morphine alters GABAergic transmission in the central amygdala during naloxone-precipitated morphine withdrawal: role of cyclic AMP. *Front Integr Neurosci* 2014; 8(45): 1–10.
- 19 Margolis EB, Fields HL. Mu opioid receptor actions in the lateral habenula. *PLoS One* 2016; 11(7): e0159097.
- 20 Zhang Y (张燕), Wang HB, Fan HG. Effect of tiletamine on the endogenous opioid peptides content in different encephalic regions of rats. *Chin J Anim Vet Sci (畜牧兽医学报)* 2010; 82(9): 515–519 (in Chinese with English abstract).
- 21 Venkatesan P, Wang J, Evans C, Irnaten M, Mendelowitz D. Endomorphin-2 inhibits GABAergic inputs to cardiac parasympathetic neurons in the nucleus ambiguus. *Neuroscience* 2002; 113(4): 975–983.
- 22 Venkatesan P, Wang J, Evans C, Irnaten M, Mendelowitz D. Nociceptin inhibits gamma-aminobutyric acid inputs to cardiac parasympathetic neurons in the nucleus ambiguus. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 300(1): 78–82.
- 23 Koehl A, Hu H, Maeda S, Zhang Y, Qu Q, Paggi JM, Latorraca NR, Hilger D, Dawson R, Matile H, Schertler GFX, Granier S, Weis WI, Dror RO, Manglik A, Skiniotis G, Kobilka BK. Structure of the μ opioid receptor-Gi protein complex. *Nature* 2018; 558(7711): 547–552.
- 24 Rhim H, Miller RJ. Opioid receptors modulate diverse types of calcium channels in the nucleus tractus solitarius of the rat. *J Neurosci* 1994; 14(12): 7608–7615.