

吗啡作用的中枢机制及相关的基因调控

郑希耕, 隋南

(中国科学院心理研究所, 北京 100101)

[摘要] 吗啡的中枢作用机制主要涉及到多巴胺(DA)、内源性阿片肽和 γ -氨基丁酸(GABA)三个相对独立又相互联系的脑内神经环路。在吗啡作用下,不同成瘾相关脑区如中脑腹侧背盖区(VTA)、伏隔核(NAc)、蓝斑(LC)等,发生脑区特异性改变。尽管其改变的机制不尽相同,但同时涉及到细胞外神经递质、受体活性、胞内信号转导系统、即刻早基因(IEGs)和在吗啡长时程适应过程中发挥重要作用的晚基因表达。吗啡的直接生物学效应和神经元适应性反应共同构成了吗啡成瘾的分子基础。

[关键词] 吗啡;即刻早基因;cAMP反应元件结合蛋白;基因调控

Brain mechanisms of morphine abuse and related gene expression

ZHEN G Xi-geng, SUI Nan

(Institute of Psychology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

[Abstract] Three main neurotransmission systems, that is, dopaminergic, opioid-peptide and GABA, are deeply involved in morphine abuse. Under different treatment schedules, addiction-related brain regions, such as VTA, NAc, LC, etc., initiate region-specific changes, by different mechanisms accordingly. These alterations simultaneously embody changes of extracellular neurotransmitters, receptor-activities, intracellular signal transduction process and gene expressions. Direct biological effects of morphine action and compensatory reactions of neurons jointly compose the molecular basis for morphine abuse and underlie the phenotype of reinforcement effect, tolerance, dependence and abstinence of morphine treatment.

[Key words] morphine; IEGs; CREB; gene regulation*

吗啡成瘾过程中系列行为变化的潜在生物学基础主要体现在脑内神经元在结构、生理、生化及功能等不同层面上的改变。脑内DA、阿片肽、GABA能中枢环路参与吗啡成瘾的调节过程;吗啡成瘾的生物学改变是一个时间依赖性进程,急性给药主要通过中脑边缘多巴胺系统(MLDS)产生药物强化作用,并引起即刻早基因(IEGs)表达的改变;慢性吗啡给药,引起具有cAMP反应元件(CRE)调控序列的基因发生稳定的表达改变,如c-fos基因、脑源性神经营养因子(BDNF)基因、前脑啡肽原(preproenkephalin)和前强啡肽原(pre-

prodynorphin)基因等;吗啡在慢性给药状态下的这些长时程适应性改变成为导致药物渴求和长时程戒断后复吸的重要神经生物学基础。

1 吗啡中枢作用的脑内环路

脑内存在着DA、阿片肽和GABA能三个主要的调节吗啡成瘾的神经环路。这三个神经环路从脑区走行上看虽然相对独立,但是其间有着大量的跨环路突触连接。通过从中脑腹侧背盖区(VTA)到伏隔核(NAc)、前额叶皮层(PFC)、嗅结节和杏仁核,以及从

* [文章编号] 1008-0872(2001)04-0343-04 [中图分类号] R969;Q786 [文献标识码] A [收稿日期] 2001-01-08
[基金项目] 国家自然科学基金(39570257),中科院生物与技术特别支持经费,中科院知识创新青年科学家小组,中科院知识创新工程项目(KSCX2-2-03) [通讯作者] 隋南 [联系电话] 010-64850858 [作者简介] 郑希耕(1966-),男,河北人,博士研究生,主治医师,从事药物成瘾的脑机制及学习与记忆的神经学基础方面的研究。

SN 到纹状体尾核、壳核的投射,形成脑内两条多巴胺环路^[1];急性吗啡给药,通过中脑边缘多巴胺系统(MLDS)的DA能神经元产生药物强化作用;慢性给药,通过激活NAc和PFC的DA能神经突触,实现药物的强化作用。有证据表明,不论是从急性给药数分钟后,还是到药物的慢性依赖状态,吗啡的强化和依赖效应主要通过VTA-NAc的DA系统介导,NAc、PFC可能是产生吗啡强化效应的最终部位^[2~5]。激活D1受体亚型可以激活边缘中脑和黑质-纹状体等脑区即刻早基因(IEGs)的转录,提高神经生长因子1-A(NGFI-A),即刻早基因*c-fos* mRNA, Fos相关抗原(46-kD FRAs, 35-kD FRAs)的表达,增加AP-1蛋白的DNA结合活性,进而影响到其他下游基因转录和新的肽类或新的蛋白质的合成。上述改变既可诱导DA系统活动变化,产生吗啡强化效应,也是药物依赖过程中长时程适应性的分子基础^[4,8]。

内源性阿片肽神经元在脑内分布广泛,端脑(包括NAc,腹侧苍白球,杏仁核等),间脑(包括弓状体,外侧下丘脑,丘脑等)和中脑(包括VTA,SN,LC等)都有大量的内源性阿片肽神经元及其轴突分布。这些内啡肽类通过作用于 μ , κ , δ 等阿片受体,产生抗伤害反应和药物强化效应^[4,6]。阿片受体在边缘中脑皮质和黑质-纹状体通路的DA能神经元分布广泛,这使得吗啡类药物可以直接作用于DA神经元调节药物的强化效应。与此相应,前脑喙部的脑啡肽和强啡肽神经元也具有D1和D2受体,DA又可以经由这些受体调节内源性阿片肽的生成和在突触间的传递^[7]。这些资料不仅表明DA环路和内源性阿片肽环路存在着大量的交互作用,并且提示过去认为由DA系统调节的药物强化效应也有内源性阿片肽的参与。

GABA能系统在吗啡的成瘾过程中也发挥重要作用。经 μ 受体介导,吗啡可以直接抑制GABA能神经元,从而解除GABA能神经元对VTA内DA能神经元的抑制,并通过D1受体完成吗啡的间接强化效应。除上述脑内环路,谷氨酸能(Glu)和5-羟色胺(5-HT)递质系统也参与药物强化和依赖效应的发生。有研究报道,急性吗啡给药,蓝斑(LC)内谷氨酸能神经输入活动上升^[8];慢性给药,VTA,LC都可见到谷氨酸受体亚单位成分的改变;通过转基因技术选择性上调VTA的Glu1受体,可使大鼠出现对吗啡的敏感化效应^[9]。毁损NAc区的5-HT投射,给予5-HT₃受体拮抗剂或敲除5-HT₃受体,可以减弱吗啡的自身给药(SA)行为^[10]。

2 吗啡中枢作用的分子机制

吗啡通过作用于不同脑区的 μ , κ , δ 受体而产生

药物的强化与依赖效应。吗啡受体是一种G蛋白偶联受体,在脑内分布广泛,其效应与应激知觉、镇痛、抗伤害和奖赏效应的发生有关^[11]。有证据表明,在不同脑区,吗啡受体可以选择性地和G_s或G_{i/o}蛋白偶联,兴奋或抑制腺苷酸环化酶(AC)系统,从而使整个cAMP信号转导通路发生改变^[5]。尽管对吗啡受体功能的认识依然有限,但在吗啡所致的受体后效应的研究中,却有较为明确的结果。吗啡急性给药,通过 μ 和 κ 受体介导,在数分钟或数小时内可以使包括LC,NAc,VTA在内的不同脑区的DA水平上升,神经细胞发生cAMP信号转导通路及相应信使分子如AC1,AC8,PKA及CREB等的功能下调。在LC,吗啡急性给药使神经元内钾离子外流,抑制钠离子和钙离子内流,细胞发生超极化反应而抑制LC神经元,导致神经元放电频率下降^[3,5]。在急性给药的情况下,吗啡急性强化作用也可以通过百日咳毒素选择性地激活G_s蛋白,霍乱毒素选择性地阻断G蛋白,从而减轻吗啡的急性强化效应,这表明cAMP通路功能的下调至少在部分程度上直接导致了吗啡的急性强化效应,此外,在急性给药的情况下,LC谷氨酸能神经输入活动上升,表明兴奋性神经递质也部分参与了吗啡急性强化效应^[3]。在慢性给药状态下,包括LC,VTA,NAc在内的成瘾相关脑区,发生细胞内cAMP通路功能的上调,这种上调与对抗吗啡的急性抑制效应有关。另外,不同脑区生理、生化、结构、功能等的改变,在慢性给药时具有较强的脑区特异性,其机制也不尽相同。

在LC,cAMP信号转导通路及相应信使分子,如AC1,AC8,G_s,PKA,CREB上调,cAMP通路功能的上调激活非选择性阳离子通道,使钙离子内流增加,提高细胞内源性兴奋性,这对抗了急性强化作用引起的抑制效应,表现为成瘾大鼠LC的放电频率已接近正常^[12]。与此同时,LC神经元发生酪氨酸羟化酶(TH)的过度合成和谷氨酸(Glu)受体亚单位成分的改变。这些改变在VTA内也可以见到。撤药后,功能上调的cAMP通路和由旁巨细胞核团输入到LC的谷氨酸能神经输入的激活作用,使LC兴奋性大幅度上升,引起去甲肾上腺素(NA)大量释放,使成瘾动物出现严重戒断反应,并使之成为吗啡躯体依赖和戒断反应发生的有效指征^[3]。虽然电毁损LC可以显著减轻纳洛酮诱发的部分戒断症状,但是认为LC的NA释放是导致戒断反应发生的唯一机制的看法是不全面的。选择性毁损从LC发出的NA能神经末梢,对戒断症状没有影响;化学毁损LC的NA能神经元,或用利血平耗竭中枢NA,反而加重吗啡戒断症状;这些研究证据说明LC是介导阿片戒断症状的重要脑区但不是唯一

脑区,NA也不是决定戒断症状的唯一递质^[13]。

在NAc,AC和PKA等信使分子也发生上调;与LC所不同的是,G蛋白和CREB发生下调。NAc壳部存在 μ ,D1,D2受体,向NAc壳部定向注射 μ 受体激动剂,可导致该区DA释放增多,动物出现中枢兴奋效应、刻板行为和条件性位置偏爱效应(conditioned place preference, CPP);相应的,通过DNA同源重组技术使NAc的 μ 受体失活,可以显著减轻大鼠的戒断症状^[14];在NAc突触前膜分布有受体,定向注射受体激动剂,能够降低NAc区DA的释放,并出现条件性位置厌恶反应(conditioned place aversion, CPA);这些证据都表明除吗啡的间接强化效应外,还存在着由NAc区的 μ 受体介导的吗啡直接强化效应。通过转基因技术使NAc的D2受体失活,可以减轻大鼠的CPP效应,但却不能减轻大鼠的戒断反应症状^[15]。值得注意的是,在NAc,通过cAMP信号转导通路激活的PKC,可将NAc的NMDA受体磷酸化,消除镁离子对该受体的抑制,激活NMDA-NO-cGMP信号转导通路,参与吗啡依赖的形成^[8]。目前我们对NAc的慢性适应性改变和动物成瘾行为之间的特异性关系所知不多,重要的原因之一,是NAc与LC和VTA不同,其神经核团具有异源性,其中有不同种类神经纤维的输入、输出联系。这干扰了我们在NAc不同神经核团生物活性改变和成瘾行为表现之间建立一种有效而明确的连接。

VTA的神经元改变更具特异性,也更为复杂。除了cAMP通路转导功能发生改变外,慢性吗啡给药,导致VTA细胞外调节激酶(EMK),DA和细胞内TH水平的上调;此外,慢性给药,VTA内GuR1,NMDAR1也发生上调^[8]。应用转基因技术使GuR1受体亚型选择性上调后,动物出现对吗啡的敏感化效应;而通过转基因技术使GuR其他受体亚型上调却无此效应^[9]。此外,慢性给药还导致VTA神经元结构的改变,包括胶质细胞原纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic proteins)增加,DA神经元缩小和神经元内神经纤维蛋白(neurofilament proteins),如NF200,NF160,NF68等的减少等。像cAMP通路功能适应性上调一样,VTA神经元形态结构的改变,显然与对抗吗啡急性作用下的DA上调有关,以至于影响到了DA神经元从VTA到NAc的投射。向VTA内微量注射脑源性神经营养因子(BDNF),可以抑制VTA内神经细胞cAMP通路和TH水平的上调,并逆转VTA内DA神经元的形态、结构的改变^[3,21],这有一定的治疗意义。此外,在吗啡对细胞信号转导系统的作用中,cAMP信号转导通路的改变只是复杂级联反应中的途径之一。有报道证实,阿

片作用于受体,可以激活细胞内的磷酸酰肌醇信号转导系统,这条通路至少在部分程度上参与了吗啡的强化作用^[16]。

3 吗啡诱导下脑内相关基因的表达

在药物长期诱导下,细胞内信使分子发生改变,激活细胞内不同的蛋白激酶系统;在蛋白激酶的作用下,不同的转录因子被激活。激活的转录因子可以直接作用于效应子,调节下游基因的转录;也可以对其他转录因子的转录进行调控,从而间接地影响其他基因的表达。目前研究较多的是即刻早基因(IEGs)和具有cAMP反应元件(CRE)调控序列的基因。

IEGs是一种非特异性的早反应基因,可以被神经递质、激素或成瘾药物等多种物质诱导,但其编码的蛋白如NGF1,Fos,Jun等存在时间很短。在吗啡急性作用下,经由DA受体介导,IEGs表达发生改变,其中c-fos在不同脑区的表达没有特异性,而jun-B在不同脑区表达上升^[10];慢性吗啡给药,c-fos的表达在正常水平,对转录的调控作用弱化;与此同时,相关神经核团内Fos相关抗原(FRAs)上调,且存在时间较长,生物活性稳定;有研究者认为FRAs是启动吗啡长时程适应机制的分子开关^[5]。吗啡慢性给药,多巴胺D1受体亚型被激活,提高边缘中脑和黑质-纹状体等脑区IEGs的表达,包括NGF1-A,c-fos mRNA,46-kD FRAs,35-kD FRAs等。当fos和jun家族基因获得表达后,fos和jun蛋白可以形成异源二聚体,作为转录因子作用于具有AP-1调控序列的结构基因,参与到信号转导通路中的各效应酶的转录调控过程中。吗啡戒断后,不同脑区IEGs的表达上升,其中NGF1-A编码的调控蛋白,作为新的转录因子可以和调控序列中的激素反应元件(HER)结合,调节下游基因的转录;吗啡戒断后,DA,5-HT,NE等受体mRNA的表达持续上升,导致相应神经递质系统功能的改变^[10]。

慢性吗啡给药,不同脑区神经细胞cAMP信号转导通路功能上调,PKA催化亚单位上调;同时CaM-CaMK信号转导通路激活,钙依赖性蛋白激酶上调,这两者使细胞内的cAMP反应元件结合蛋白(CREB)发生磷酸化而激活;磷酸化后的CREB可以和CREB结合蛋白(CBP)结合,共同作用于具有CRE调节序列的结构基因的TATA盒,发挥其转录调节作用。多种基因都含有CRE调节序列,如前脑啡肽原基因、前强啡肽原基因、c-fos基因、BDNF基因、生长抑素基因等;其中BDNF转录的改变被认为是VTA在慢性吗啡作用下发生细胞形态、结构和功能改变的分子基础;而前脑啡肽原和前强啡肽原基因表达的改变被认为与由于

DA 释放而引起的突触适应性改变有重要关系^[8,10]。上述研究证据表明,CREB 启动与 IEGs 相应的晚基因表达,这种晚基因表达是吗啡依赖、渴求和戒断症状发生的重要分子基础。与此相应,吗啡急性给药导致 LC 的 CREB 的磷酸化下调,而在慢性给药和纳络酮催促戒断时,CREB 水平上升;应用反义 CREB 微量注射到 LC 可以显著减轻大鼠纳洛酮促发的某些戒断症状,这些证据同时支持 CREB 启动吗啡慢性适应性改变的重要可能性^[17]。

在 CREB 和 IEGs 的相互调控关系上,研究发现 CREB 突变型小鼠在戒断后,杏仁核 *c-fos* 的表达不仅没有下降,而且还显著上升;与此相应,急性给药时,不同脑区神经元 CREB 下调,而 *c-fos* 在不同脑区则缺乏特异性改变;而慢性给药,LC 的 CREB 上调,NAc 的 CREB 下调,而相应脑区 *c-fos* 的表达始终处于正常水平;这些研究证据都提示,像吗啡急性作用一样,*c-fos* 的改变可以独立于 CREB 的改变而发生,CREB 对 *c-fos* 的诱导只是其获得表达的其中一种机制。*c-fos* 基因调控序列中还存在着如血清反应元件 (SRE)、钙反应元件 (CaRE) 等多种顺式作用元件;cAMP-CREB 和 CaM-CaMK 等多种信号转导通路的激活都会影响到 *c-fos* 的表达^[22]。

反义核酸技术是研究基因功能的重要手段,应用反义 CREB 注射到 LC,可以引起 AC8 选择性下调和 LC 放电频率的降低,而 AC 其他亚单位和 PKA 却不发生改变,这提示在 cAMP-CREB 转导通路中存在着某种反馈调节机制,其作用的靶点可能是 AC 系统,而不是 PKA。慢性给药,LC 中 CREB 磷酸化水平上升,而在 NAc 内其水平下降;这提示吗啡对 CREB 磷酸化的调节在脑内存在着不同的通路^[17]。

转基因技术同样广泛地应用在对基因功能的研究中,通过同源重组 DNA 技术使大鼠 μ 受体失活,可以显著减轻成瘾大鼠的戒断症状^[10,14];敲除多巴胺 D2 受体的大鼠,尽管躯体戒断症状并未减轻,但条件性位置偏爱效应 (CPP) 显著下降^[18],这提供了 D2 受体参与吗啡所致的动机状态改变等精神依赖效应的重要证据。FosB 基因敲除的小鼠和 CREB 突变型小鼠纳洛酮催促戒断反应明显减轻,表明戒断症状的发生与 *fos* 和 CREB 的表达上升有关^[19]。值得注意的是,基因敲除后会产生胚胎神经系统发育中的代偿,因而在通过对转基因技术所获得的研究结果的解释上应谨慎^[20]。

4 小结

吗啡作用于不同脑区的 μ , κ 受体,通过诉诸于

胞内第二信使系统和基因转录、翻译的改变,引起脑内 DA、阿片肽、GABA 神经通路相应的改变,引发药物的强化与依赖效应,其改变呈时间依赖性进程。在这种时间依赖性进程中,阐明从吗啡急性给药到慢性适应性改变的过程和机制依然是目前最具挑战性的目标。其中,特异、高选择性的技术与方法是研究中必不可少的前提。转基因和基因敲除技术是研究基因调控和特定蛋白质功能的重要方法,这些研究应该定位于吗啡成瘾的特定阶段,特定类型神经细胞和某些特定成瘾相关基因上。此外,基因的单核苷酸多态性也和个体吗啡成瘾反应的不同有着重要的关系,这对我们理解吗啡成瘾的中枢机制和成瘾的治疗有重要意义;它表明了遗传和环境的交互作用,是未来的研究方向之一。

[参考文献]

- [1] Koob GF. Drug of Abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 1992, 22:575-581.
- [2] Horowitz JM, Torres G. Cocaeethylene: Effects on brain systems and behavior[J]. *Addiction Biol*, 1999, 7: 191-197.
- [3] Eric J. Nestler, molecular mechanisms underlying opiate addiction: Implications for medication development [J]. *Semin Neurosci*, 1997, 9: 84-93.
- [4] Nestler EJ. Under siege: the brain on opiates[J]. *Neuron*, 1996, 16: 897-900.
- [5] Nestler EJ, Aghajanian GK. Molecular and cellular basis of addiction[J]. *Science*, 1997, 278 (3): 58-63.
- [6] Hermanson O, Hallbeck M, Blomqvist A. Preproenkephalin mRNA expression neurons in the rat thalamus [J]. *Neuroreport*, 1995, 6:833-836.
- [7] Cole RL, Konradi C, Douglass J, et al. Neuronal adaptation to amphetamine and dopamine: molecular mechanism of prodynorphin gene regulation in rat thalamus[J]. *Neuron*, 1995, 14:813-823.
- [8] Nestler EJ, Hope BT, Widnell KL. Drug addiction: A model for the molecular basis of neural plasticity [J]. *Neuron*, 1993, 11: 995-1006.
- [9] William A. Carlezon Jr, Virginia AB, et al. Nestler Sensitization to Morphine Induced by Viral-Mediated Gene Transfer [J]. *Science*. 1999, 277 (5327):812-814.
- [10] German T, Judith M. Horowitz. Drugs of abuse and gene expression [J]. *Psychosom med*, 1999, 61:630-650.
- [11] Schultz W. Dopamine neurons and their role in reward mechanisms [J]. *Curr Opin*, 1997, 7:191-197.
- [12] Nestler EJ. Molecular mechanisms of drug addiction: adaptations in signal transduction pathways [J]. *Mol Psychiatr*, 1996, 1(3): 190-199.
- [13] Christie MJ, Williams JT, Osborne PB, et al. Where is the locus in opioid withdrawal [J]? *TIPS*, 1997, 18:134-140.
- [14] Matthes HWD, Maldonado R, Simonin F. Loss of morphine-induced analgesia, reward effect and withdrawal symptoms in mice (下转至第 361 页)

元的数目,动物旋转次数明显减少。NTN 与 GDNF 的作用基本一致^[3],提示 NTN 在帕金森病的治疗中有一定的作用。

因 prepro-NTN 基因除含有成熟 NTN 编码序列外,还含有信号肽及其他一些肽段,这些肽段对于成熟 NTN 的高效分泌是必不可少的。目前的 prepro-NTN 基因克隆及蛋白鉴定工作国内尚无报道。本研究克隆了 prepro-NTN 基因并对其在 mRNA 水平和蛋白质水平的表达进行了鉴定。prepro-NTN 基因因其 G 与 C 含量非常高(达 75%),故给其基因的克隆带来了相当大的困难,我们试用提高退火温度至 68℃,加入二甲基亚枫以利于 DNA 变性,均未获成功。最终我们选择可扩增高 GC 含量的 DNA 聚合酶,获得了 588 bp 的特异性产物,且测序完全正确。转染 COS-7 细胞后, Northern 印迹分析证实 prepro-NTN 基因能够被转录成 mRNA, Western 印迹分析证实 prepro-NTN 基因能够成功地分泌表达为成熟的 NTN 蛋白,且其表达的 NTN 蛋白对原代胚胎中脑神经元的存活和生长有明显的促

进作用,这为后续 NTN 基因治疗帕金森病研究工作打下了坚实的基础。

[参考文献]

- [1] Kotzbauer PT, Lampe PA, Heukeroth RO, *et al.* Neurturin, a relative of glial-cell line derived neurotrophic factor[J]. *Nature*, 1996, 384(5):467-470.
- [2] Akerud P, Alberch J, Eketjil S, *et al.* Differential Effects of glial cell-line-derived neurotrophic factor and neurturin on developing and adult substantia nigra dopaminergic neurons [J]. *J Neurochem*, 1999, 73:70-78.
- [3] Horger BA, Nishimura MC, Aramanini MP, *et al.* Neurturin exerts potent actions on survival and function of midbrain dopaminergic neurons[J]. *J Neurosci*, 1998, 18 (13):4 929-4 937.
- [4] Lin LF, Doherty DH, Lile JD, *et al.* GDNF: a glial cell line-derived neurotrophic factor for midbrain dopaminergic neurons[J]. *Science*, 1993, 260: 1 130-1 132.
- [5] Rosenblad C, Kirik C, Bjorklund A, *et al.* Neurturin enhance the survival of intrastriatal fetal dopaminergic transplants [J]. *Neuroreport*, 1999, 10:1 783-1 787.
- [6] Lachy M, Lachy M, Lachy M, *et al.* Neurturin, a relative of glial cell line-derived neurotrophic factor, is expressed in the developing rat brain [J]. *J Neurosci Res*, 1997, 388:586-589.
- [7] Lachy M, Lachy M, Lachy M, *et al.* Neurturin, a relative of glial cell line-derived neurotrophic factor, is expressed in the developing rat brain [J]. *J Neurosci Res*, 1997, 388:586-589.
- [8] Lachy M, Lachy M, Lachy M, *et al.* Neurturin, a relative of glial cell line-derived neurotrophic factor, is expressed in the developing rat brain [J]. *J Neurosci Res*, 1997, 388:586-589.
- [9] Lachy M, Lachy M, Lachy M, *et al.* Neurturin, a relative of glial cell line-derived neurotrophic factor, is expressed in the developing rat brain [J]. *J Neurosci Res*, 1997, 388:586-589.
- [10] Lachy M, Lachy M, Lachy M, *et al.* Neurturin, a relative of glial cell line-derived neurotrophic factor, is expressed in the developing rat brain [J]. *J Neurosci Res*, 1997, 388:586-589.
- [11] Lachy M, Lachy M, Lachy M, *et al.* Neurturin, a relative of glial cell line-derived neurotrophic factor, is expressed in the developing rat brain [J]. *J Neurosci Res*, 1997, 388:586-589.
- [12] Lachy M, Lachy M, Lachy M, *et al.* Neurturin, a relative of glial cell line-derived neurotrophic factor, is expressed in the developing rat brain [J]. *J Neurosci Res*, 1997, 388:586-589.
- [13] Lachy M, Lachy M, Lachy M, *et al.* Neurturin, a relative of glial cell line-derived neurotrophic factor, is expressed in the developing rat brain [J]. *J Neurosci Res*, 1997, 388:586-589.
- [14] Lachy M, Lachy M, Lachy M, *et al.* Neurturin, a relative of glial cell line-derived neurotrophic factor, is expressed in the developing rat brain [J]. *J Neurosci Res*, 1997, 388:586-589.
- [15] Harris GC, Aston-Jones C. Involvement of D2 dopamine receptor in the nucleus accumbens in the opiate withdrawal syndrome [J]. *Nature*, 1994, 371:155-159.
- [16] Harris HW, Nestler EJ. Opiate regulation of signal transduction pathways [J]. *Neurobiol Opiates*, 1993, 301-331.
- [17] Windell KL, Self DW, Lane SB, *et al.* Regulation of CREB expression: *in vivo* evidence for a functional role in morphine action in the nucleus accumbens [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1996, 276: 306-315.
- [18] Maldonado R, Salardi A, Valverde O, *et al.* Absence of opiate rewarding effects in mice lacking dopamine D2 receptors [J]. *Nature*, 1997, 388:586-589.
- [19] Maldonado R, Blendy JA, Tzavara E, *et al.* Reduction of morphine abstinence in mice with a mutation in the gene encoding CREB [J]. *Science*, 1996, 273:657-659.
- [20] Pich EM, Epping-Jordan MP. Transgenic mice in drug dependence research [J]. *Ann Med*, 1998, 30(4): 390-396.
- [21] Berhow MT, Russel DS, Terwilliger RZ, *et al.* Influence of neurotrophic factors on morphine and cocaine-induced biochemical changes in the mesolimbic dopamine system [J]. *Neuroscience*, 1995, 68: 969-979.
- [22] Lane-Ladd SB, Pineda J. CREB in the locus coeruleus: biochemical, physiological, and behavioral evidence for a role in opiate dependence [J]. *J Neurosci*, 1997, 17(20): 7 890-7 901.

(上接第 346 页)

lacking the μ -opioid receptor gene [J]. *Nature*, 1996, 383:819-823.

- [15] Harris GC, Aston-Jones C. Involvement of D2 dopamine receptor in the nucleus accumbens in the opiate withdrawal syndrome [J]. *Nature*, 1994, 371:155-159.
- [16] Harris HW, Nestler EJ. Opiate regulation of signal transduction pathways [J]. *Neurobiol Opiates*, 1993, 301-331.
- [17] Windell KL, Self DW, Lane SB, *et al.* Regulation of CREB expression: *in vivo* evidence for a functional role in morphine action in the nucleus accumbens [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1996, 276: 306-315.
- [18] Maldonado R, Salardi A, Valverde O, *et al.* Absence of opiate rewarding effects in mice lacking dopamine D2 receptors [J]. *Nature*,

1997, 388:586-589.

- [19] Maldonado R, Blendy JA, Tzavara E, *et al.* Reduction of morphine abstinence in mice with a mutation in the gene encoding CREB [J]. *Science*, 1996, 273:657-659.
- [20] Pich EM, Epping-Jordan MP. Transgenic mice in drug dependence research [J]. *Ann Med*, 1998, 30(4): 390-396.
- [21] Berhow MT, Russel DS, Terwilliger RZ, *et al.* Influence of neurotrophic factors on morphine and cocaine-induced biochemical changes in the mesolimbic dopamine system [J]. *Neuroscience*, 1995, 68: 969-979.
- [22] Lane-Ladd SB, Pineda J. CREB in the locus coeruleus: biochemical, physiological, and behavioral evidence for a role in opiate dependence [J]. *J Neurosci*, 1997, 17(20): 7 890-7 901.