

DOI:10.16781/j.0258-879x.2017.06.0757

· 论 著 ·

慢性睡眠剥夺对大鼠海马超微结构和海马内多巴胺 D₁ 受体下游信号通路的影响

刘团结^{1*}, 陈 斯^{2,3}, 方麒麟¹, 王 博¹, 毛 蕾¹, 沈 滔¹, 徐玉萍¹, 马文领², 史仍飞^{3*}

1. 上海交通大学附属第一人民医院宝山分院神经内科, 上海 200940

2. 第二军医大学热带医学与公共卫生学系环境卫生学教研室, 上海 200433

3. 上海体育学院运动科学学院, 上海 200438

[摘要] **目的** 探讨慢性睡眠剥夺(CSD)对海马超微结构及海马内多巴胺 D₁ 受体下游信号通路的影响。**方法** 选取雄性 SD 大鼠 35 只, 剔除体重最轻、负重游泳时间最短和 Morris 水迷宫实验中 90 s 仍找不到平台的 11 只大鼠, 其余 24 只随机分为大平台对照(TC)组、CSD 组和 CSD+多巴胺 D₁ 受体激动剂 SKF38393 (SKF)组, 采用改良多平台水环境法建立大鼠 CSD 模型, SKF 组在 CSD 15~21 d 腹腔注射 SKF38393 (1 mg/kg)。CSD 21 d 时, 采用透射电镜观察各组大鼠海马的超微结构, 采用蛋白质印迹法及 qPCR 检测大鼠 CSD 后海马内多巴胺 D₁ 受体相关信号通路关键因子的表达。**结果** CSD 导致的海马神经元线粒体肿胀变性、膜结构破坏可通过使用 SKF38393 得以改善。与 TC 组相比, CSD 组大鼠海马内腺苷酸环化酶 5 (Adcy5)、cAMP 依赖蛋白激酶 α 型催化亚基 (Prkaca)、多巴胺和 cAMP 调节的磷蛋白 (Darpp32)、Ras 相关蛋白 (Rap)1a、细胞外信号调节蛋白激酶 1 和 2 (ERK1/2)、磷脂酶 C β 1 (PLC β 1)、钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II a 和 IV (CaMK II a, CaMK IV) mRNA 表达均降低 ($P < 0.05$), 蛋白激酶 A 催化亚基 α (PKA α) 总蛋白及其磷酸化水平、磷酸化 ERK1/2、PLC β 1 和磷酸化-CaMK IV 蛋白表达均降低 ($P < 0.05$)。与 CSD 组相比, SKF 组 Prkaca、Darpp32、Rap1a、Rap1b、ERK1 和 CaMK IV mRNA 表达均增加 ($P < 0.05$); PKA α 总蛋白及其磷酸化均以及磷酸化 CaMK IV 蛋白表达均增加 ($P < 0.05$), 但 PLC β 1 和 CaMK IV 总蛋白表达水平无明显变化。**结论** CSD 可破坏海马神经元超微结构, 使用多巴胺 D₁ 受体激动剂 SKF38393 可有效改善海马超微结构, 其机制可能与 PKA 和磷酸肌醇信号通路的参与有关。

[关键词] 睡眠剥夺; 多巴胺 D₁ 受体; 信号通路; 海马; 超微结构

[中图分类号] R 338.68 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2017)06-0757-06

Effect of chronic sleep deprivation on ultrastructure and dopamine D₁ receptor downstream signaling pathway in hippocampus of rats

LIU Tuan-jie^{1*}, CHEN Si^{2,3}, FANG Qi-lin¹, WANG Bo¹, MAO Lei¹, SHEN Tao¹, XU Yu-ping¹, MA Wen-ling², SHI Reng-fei^{3*}

1. Department of Neurology, Baoshan Division of the General Hospital of Shanghai, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200940, China

2. Department of Environment Health, Faculty of Tropical Medicine and Public Health, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

3. School of Exercise Science, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China

[Abstract] **Objective** To explore the effects of chronic sleep deprivation (CSD) on the ultrastructure and downstream signaling pathway of dopamine D₁ receptor of the hippocampus in rats. **Methods** Thirty-five male SD rats were selected in this experiment, of which 11 with the lightest weight, shortest weight-bearing swimming time or no finding the platform within 90 s in Morris water maze experiment were excluded. The other 24 rats were randomly divided into tank control (TC) group, CSD group and CSD+dopamine D₁ receptor agonist SKF38393 (SKF) group. The CSD rat model was established by modified multi-platform water environment, and then the rats in the SKF group were intraperitoneally injected with SKF38393 (1 mg/kg) at 15-21 d of CSD. At 21 d after CSD, the ultrastructure of

[收稿日期] 2017-05-06 **[接受日期]** 2017-05-26

[作者简介] 刘团结, 硕士, 副主任医师。

* 通信作者 (Corresponding authors). Tel: 021-56162417-2053, E-mail: 15301715545@163.com; Tel: 021-51252347, E-mail: rfeishi@aliyun.com

hippocampus was observed by transmission electron microscopy, and the expression of key factors in dopamine D₁ receptor-related signal pathway in the hippocampus was detected by Western blotting and qPCR. **Results** The mitochondrial swelling, degeneration and destruction of membrane structure of the hippocampus neurons induced by CSD were improved by SKF38393. Compared with the TC group, the mRNA expression levels of adenylate cyclase 5 (Adecy5), protein kinase cAMP-dependent catalytic α (Prkaca), dopamine and cAMP-regulated phosphoprotein (Darpp32), Ras-related protein (Rap) 1a, extracellular signal regulated kinase 1 and 2 (ERK1/2), phospholipase C β 1 (PLC β 1), calcium/calmodulin-dependent protein kinase II a and IV (CaMK II a, CaMK IV) in the CSD group were significantly decreased ($P < 0.05$), and the protein levels of total and phosphorylated protein kinase A catalyzes subunit α (PKA α), phosphorylated ERK1/2, phosphorylated PLC β 1, and phosphorylated CaMKIV were significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with the CSD group, the mRNA expressions of *Prkaca*, *Darpp32*, *Rap1a*, *Rap1b*, *ERK1* and *CaMKIV* in the SKF group were significantly increased ($P < 0.05$), and the protein levels of total and phosphorylated PKA α and phosphorylated CaMKIV were significantly increased ($P < 0.05$), while the expression of PLC β 1 and total CaMKIV was similar in the two groups. **Conclusion** CSD damages the ultrastructure of the hippocampus neurons in rats, which can be effectively improved by dopamine D₁ receptor agonist SKF38393, and the protective mechanism may be related to the PKA pathway and phosphoinositol pathway.

[Key words] sleep deprivation; dopamine D₁ receptor; signaling pathway; hippocampus; ultrastructure

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2017, 38(6): 757-762]

睡眠剥夺(sleep deprivation, SD)是一种常见的社会现象。根据SD的时间和缓急程度,可将SD分为急性睡眠剥夺(acute sleep deprivation, ASD)和慢性睡眠剥夺(chronic sleep deprivation, CSD)^[1]。相对于ASD, CSD对学习记忆和工作绩效的影响更为严重^[2],但目前对CSD导致学习记忆障碍的分子机制研究却不及ASD深入。研究表明海马内的多巴胺及其受体在短期记忆和工作记忆的形成、储存和提取过程中发挥重要作用^[3-4],我们前期研究发现多巴胺D₁受体(dopamine D₁ receptor, D₁R)激动剂SKF38393能够改善大鼠空间学习记忆能力;此外, CSD可使海马超微结构损伤^[5]。研究表明神经元细胞膜上的D₁R被激活后,可通过蛋白激酶(PKA)、有丝分裂原活化蛋白激酶(MAPK)和磷酸肌醇3条通路上调cAMP反应元件结合蛋白(CREB),从而提高神经元的兴奋性^[6]。但是目前仍不清楚D₁R的激活能否改善CSD导致的海马超微结构的损伤,同时也不清楚在D₁R激动剂改善CSD导致学习记忆障碍的过程中哪条信号通路对海马神经元发挥调控作用。本研究首先观察了D₁R激动剂SKF38393对CSD导致海马超微结构损伤的影响,然后通过qPCR和蛋白质印迹法检测大鼠CSD后海马内D₁R相关信号通路关键因子的表达,旨在阐明SKF38393究竟通过海马内的哪条信号通路发挥作用,为进一步探讨多巴胺对CSD过程中海马功能调

控的神经化学机制提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物及分组处理 选取雄性 Sprague Dawley 大鼠 35 只[第二军医大学实验动物中心提供,动物生产许可证号:SCXK(沪)2013-2016], 体重 160~180 g, 分笼饲养, 每笼 5 只, 食物和水自由摄取。适应饲养 1 周后, 剔除体质量最轻、负重游泳时间最短和 Morris 水迷宫实验 90 s 仍找不到平台的 11 只大鼠, 剩余 24 只大鼠分为 CSD 组、SKF (CSD+注射激动剂 SKF38393) 组和 TC (大平台对照) 组, 每组 8 只。CSD 组大鼠应用小动物睡眠剥夺箱^[6]进行 SD 18 h/d (16:00—次日 10:00), 放回笼内休息 6 h/d (10:00—16:00), 连续 21 d; SKF 组大鼠从 CSD 第 15 天开始, 腹腔注射 D₁R 激动剂 SKF38393 (1 mg/kg), 连续 7 d; TC 组小动物睡眠剥夺箱内设有大平台, 直径为 18 cm, 大鼠可在大平台上自由活动、睡眠, 其他环境与 CSD 和 SKF 组相同。实验前适应训练 3 d (2 h/d), 实验过程中每 2 d 记录 1 次大鼠体质量。

1.2 透射电镜观察海马超微结构 CSD 21 d 后, 每组随机选取 2 只大鼠, 腹腔麻醉 (10% 水合氯醛, 400 mg/kg), 经升主动脉灌注 4 ℃ 生理盐水冲洗血液, 然后用含 4% 多聚甲醛、1.25% 戊二醛的 PBS 灌注固定, 在体视显微镜下选取海马的 CA1 区, 环氧

树脂包埋,超薄切片,枸橼酸铅和醋酸铀双染,透射电镜观察并采集图像。

1.3 qPCR检测海马内 D₁R 相关信号通路关键因子 mRNA 表达 每组剩余 6 只大鼠用水合氯醛麻醉后经升主动脉灌注 4 ℃ 生理盐水冲洗血液,取出全脑,分离双侧海马,经液氮速冻后置于 -80 ℃ 保

存备用。取每只大鼠的一侧海马提取总 RNA,测定浓度,分析纯度。以 RNA 为模板进行反转录获得 cDNA,然后应用 qPCR 仪进行扩增(95 ℃ 5 s, 60 ℃ 34 s;40 个循环)。根据溶解曲线的值计算反转录产物的相对含量。引物序列见表 1。

表 1 多巴胺 D₁ 受体相关信号通路关键因子的引物序列

Tab 1 Primer sequences of key molecules of dopamine D₁ receptor related signal pathways

Gene	Forward (5'-3')	Reverse (5'-3')
<i>Adcy5</i>	CAA CTA CCT GAA CGG GGA CTA T	CGA TGC TGT GCT CCT TGA
<i>Prkaca</i>	CCC ACT CCC TAA ATC CAT TCT G	AAG CCC AGT TCC TTC CTT GAC
<i>Darpp32</i>	CTC CCC AGA AAC CCA CTC T	GCA AAC ACA GAC CAG CCT TAG T
<i>Rap1a</i>	TGA CTC CTC CCT GCC AAG C	AGT TAT CTG CTG CAA TGA GTT TGA
<i>Rap1b</i>	GGT TTA CTC CAT CAC AGC ACA G	CTT CCA GGT CGC ATT TGT TAC
<i>ERK1</i>	CTG GAA TGG AAG GGC TAT GAC	CAA CAG GAT GAG TAG GGC AGA G
<i>ERK2</i>	GCG TTC AGA TGT CGG TGT C	CAA AGG AGT CAA GAG TGG GTA AG
<i>PLCβ1</i>	ATT AGA CTG TAT CCC TGA CAC CTT T	ACT GAA TTA CAC GGC CAA CC
<i>CaMK Iγ</i>	GAG AGC ACC ACC CAC TAC TAC C	AGA CTG GCA TCC TTT TCT GTG T
<i>CaMK IIα</i>	GGA GCC ATC CTC ACC ACT ATG	ACG CCA TCA TTC TTC TTG TTT C
<i>CaMK IV</i>	CTC TTC TCG GCT GGG AAG TG	TTG GCT GCC TCG TGG TC
<i>GAPDH</i>	CAG TGC CAG CCT CGT CAT	AGG GGC ATC CAC AGT CTT C

Adcy5: Adenylate cyclase 5; *Prkaca*: Protein kinase cAMP-dependent catalytic α; *Darpp32*: Dopamine and cAMP-regulated phosphoprotein, M_r 32 000; *Rap1a/b*: Ras-related protein 1a/1b; *ERK1/2*: Extracellular signal regulated kinase 1/2; *PLCβ1*: Phospholipase C β1; *CaMK Iγ/IIα/IV*: Calcium/calmodulin-dependent protein kinase Iγ/IIα/IV; *GAPDH*: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

1.4 蛋白质印迹法检测海马内 D₁R 相关信号通路关键因子蛋白的表达 取另一侧海马标本提取总蛋白,BCA 定量蛋白浓度为 2.5 μg/μL,然后依次进行 SDS-PAGE(每孔上样总蛋白 40 μg)、转膜(PVDF 膜)、封闭 1 h,4 ℃ 过夜标记一抗:蛋白激酶 A 催化亚基 α(PKAcα; 1 : 1 000 稀释,Abcam, ab76238)、磷酸化 PKAcα (p-PKAcα, 1 : 1 000 稀释, CST, #5661)、细胞外调节蛋白激酶 1/2 (ERK1/2; 1 : 1 000 稀释, BioWorld, BS1112)、磷酸化 ERK1/2 (p-ERK1/2, 1 : 1 000 稀释, BioWorld, BS5016)、磷脂酶 Cβ1 (PLCβ1; 1 : 1 000 稀释, Abcam, ab77743)、钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 IV (CaMK IV; 1 : 1 000 稀释, Abcam, ab75874)、磷酸化 CaMK IV (p-CaMK IV; 1 : 1 000 稀释, Abcam, ab59424)、β 肌动蛋白(β-actin; 1 : 1 000, Santa Cruz, sc-1616r)。次日室温标记相应二抗 1 h。使用凝胶成像仪进行 ECL 发光、采集图像和灰度值分析。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 18.0 软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素

方差分析 (one-way ANOVA)。检验水准 (α) 为 0.05。

2 结果

2.1 D₁R 激动剂对 CSD 导致的海马超微结构损伤的改善作用 透射电镜观察显示 TC 组大鼠海马神经元排列规则,染色质均匀,核仁清晰,细胞器丰富、结构完整、边缘清晰(图 1A)。CSD 组大鼠海马神经元线粒体数量减少、肿胀甚至破裂,嵴结构模糊紊乱,部分神经元突触水肿、囊泡减少;突触后致密带较薄甚至出现结构不完整;粗面内质网结构模糊,其上的核糖体数量减少,排列凌乱(图 1B)。SKF 组大鼠海马的超微结构虽不及 TC 组完好,但线粒体的肿胀程度、突触后致密带和各种膜结构较 CSD 组得到改善(图 1C)。

2.2 D₁R 激动剂对海马 PKA 信号通路关键因子表达的影响 PKA 信号通路关键因子的表达见图 2。与 TC 组相比,CSD 组大鼠海马 *Adcy5*、*Prkaca* 和 *Darpp32* mRNA 的表达均降低 ($P < 0.05$),PKAcα

总蛋白及磷酸化表达均降低($P < 0.05$);SKF 组的 *Adcy5* mRNA 的表达也减少($P < 0.05$)。与 CSD 组相比,SKF 组大鼠海马 *Prkaca*、*Darpp32* mRNA

和 PKA α 总蛋白及其磷酸化的表达均增加($P < 0.05$),而 *Adcy5* mRNA 的表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。

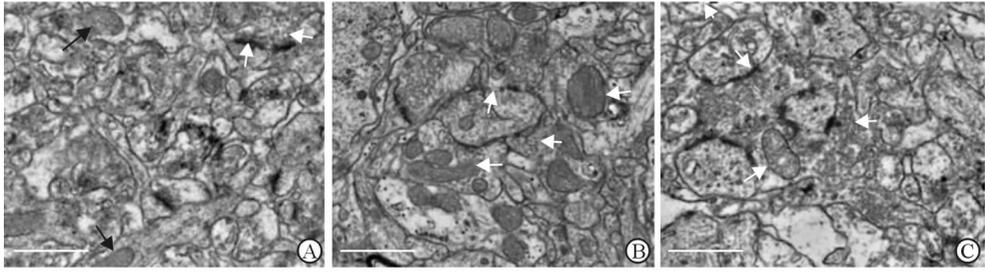


图1 多巴胺 D₁ 受体激动剂 SKF38393 对 CSD 导致海马超微结构损伤的改善作用

Fig 1 Dopamine D₁ receptor (D₁R) agonist SKF38393 improved the ultrastructure of hippocampus injured by CSD

A: TC group; B: CSD group; C: SKF group. TC: Tank control; CSD: Chronic sleep deprivation; SKF: CSD+D₁R agonist SKF38393. Black arrows indicate mitochondria, and white arrows indicate postsynaptic dense bands. Scale bar=1 μ m

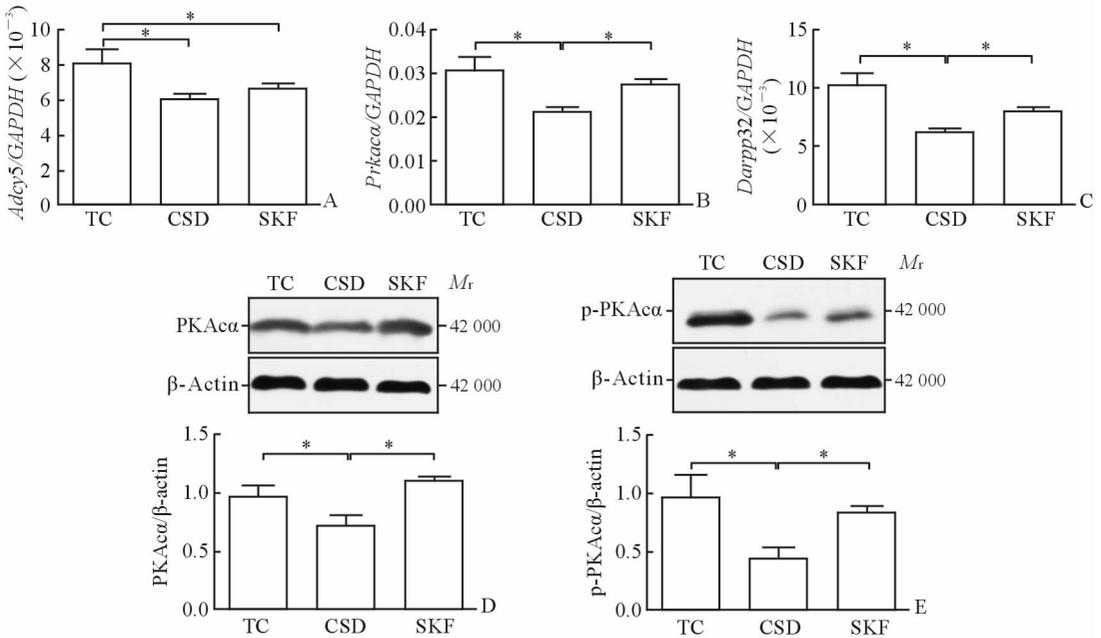


图2 D₁R 激动剂 SKF38393 对海马 PKA 信号通路关键因子表达的影响

Fig 2 Effect of D₁R agonist SKF38393 on key factor expression of PKA signaling pathway in the hippocampus of rats

A-C: qPCR results; D, E: Western blotting results. TC: Tank control; CSD: Chronic sleep deprivation; SKF: CSD+D₁R agonist SKF38393. D₁R: Dopamine D₁ receptor; *Adey5*: Adenylate cyclase 5; *Prkaca*: Protein kinase cAMP-dependent catalytic α ; *Darpp32*: Dopamine and cAMP-regulated phosphoprotein, M_r 32 000; PKA α : Protein kinase A catalytic subunit α ; p-PKA α : Phosphorylated PKA α . * $P < 0.05$. $n=6$, $\bar{x} \pm s$

2.3 D₁R 激动剂对海马 MAPK 信号通路关键因子表达的影响 MAPK 信号通路关键因子的表达见图 3。与 TC 组相比,CSD 组大鼠海马内 *Rap1a*、*ERK1*、*ERK2* mRNA 和 ERK1/2 蛋白磷酸化表达均下降($P < 0.05$),SKF 组 *ERK2* mRNA 和 ERK1/2 磷酸化的表达也降低($P < 0.05$)。但与 CSD 组相比,SKF 组大鼠海马 *Rap1a*、*Rap1b* 和 *ERK1* mRNA 的表达均增加($P < 0.05$);此外,*ERK2* mRNA 的表达上调,但与 CSD 组差异无统计

学意义($P > 0.05$)。

2.4 D₁R 激动剂对海马磷酸肌醇信号通路关键因子表达的影响 磷酸肌醇信号通路关键因子的表达见图 4。CSD 组大鼠海马内 *PLC β 1*、*CaMK II α* 、*CaMKIV* mRNA 和 *PLC β 1* 蛋白的表达均较 TC 组降低($P < 0.05$);SKF 组的 *PLC β 1*、*CaMKII α* mRNA 和 *PLC β 1* 蛋白的表达均低于 TC 组($P < 0.05$),但与 CSD 组相比,SKF 组大鼠海马内 *CaMKIV* mRNA 及其蛋白磷酸化表达均增加($P < 0.05$)。

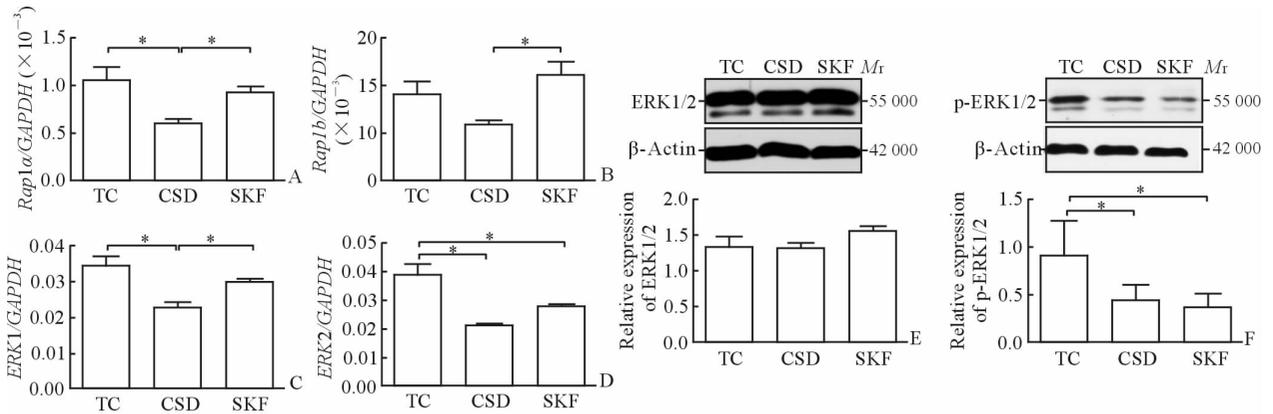


图3 D₁R激动剂SKF38393对海马MAPK信号通路关键因子表达的影响

Fig 3 Effect of D₁R agonist SKF38393 on key factor expression of MAPK signaling pathway in the hippocampus of rats

A-D: qPCR results; E, F: Western blotting results. TC: Tank control; CSD: Chronic sleep deprivation; SKF: CSD + D₁R agonist SKF38393. D₁R: Dopamine D₁ receptor; Rap1a/1b: Ras-related protein 1a/1b; ERK1/2: Extracellular signal regulated kinase 1/2; p-ERK1/2: Phosphorylated ERK1/2. * P < 0.05. n = 6, $\bar{x} \pm s$

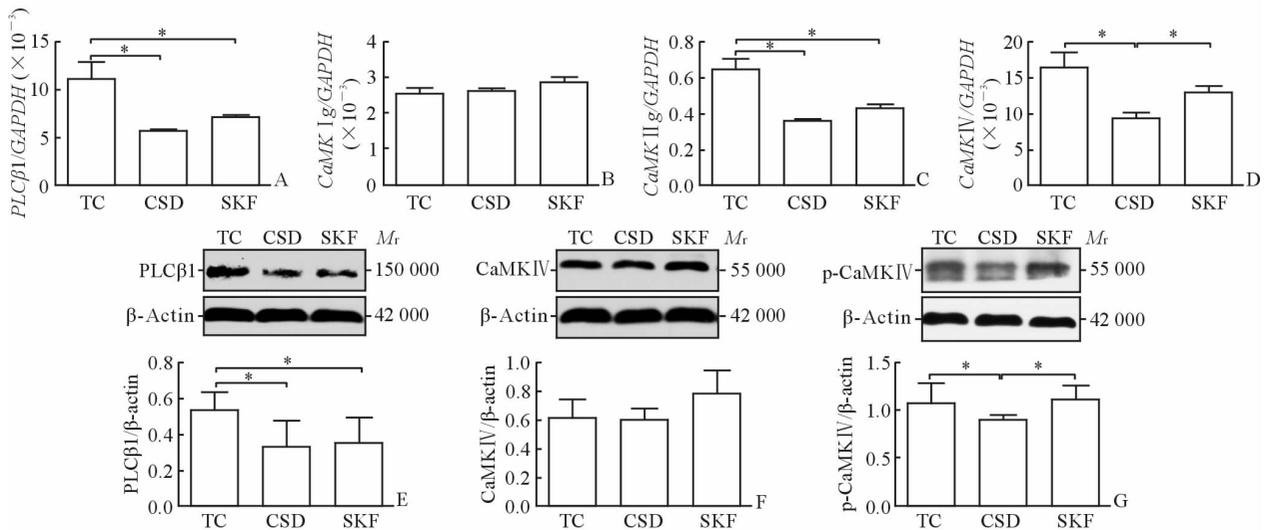


图4 D₁R激动剂SKF38393对海马磷酸肌醇信号通路关键因子表达的影响

Fig 4 Effect of D₁R agonist SKF38393 on key factor expression of phosphoinositol signaling pathway in the hippocampus of rats

A-D: qPCR results; E-G: Western blotting results. TC: Tank control; CSD: Chronic sleep deprivation; SKF: CSD + D₁R agonist SKF38393. D₁R: Dopamine D₁ receptor; PLCβ1: Phospholipase C β1; CaMK I g/II a/IV: Calcium/calmodulin-dependent protein kinase I g/II a/IV; p-CaMK IV: Phosphorylated CaMK IV. * P < 0.05. n = 6, $\bar{x} \pm s$

3 讨论

本研究在前期工作^[5]的基础上进一步证实 D₁R 激动剂 SKF38393 可以改善 CSD 导致的海马超微结构损伤。激活 D₁R 通过哪些下游信号通路发挥作用,是深入研究 D₁R 激动剂的作用机制、探寻新型药物干预靶点的关键。D₁R 与其配体结合可激活腺苷酸环化酶 (adenylyl cyclase, AC) 催化产生 cAMP,而 SD 可使海马中磷酸二酯酶(PDE)活性增加(主要为 PDE4),导致第二信使 cAMP 含量下降^[7],最终通过 PKA、MAPK 和磷酸肌醇 3 条信号通路降低神经元的兴奋性^[8-10]。本研究结果显示,

CSD 组大鼠海马内 *Adcy5*、*Prkacα*、*Darpp32* mRNA 和 PKAα 总蛋白及其磷酸化的表达均较 TC 组降低;而给予 D₁R 激动剂 SKF38393 后, *Prkacα*、*Darpp32* mRNA 和 PKAα 总蛋白及其磷酸化的表达均较 CSD 组增加。可见 CSD 可通过影响大鼠海马内 D₁R 相关的 PKA 信号通路使其发生损伤,而给予 SKF38393 干预可改善。

磷酸肌醇偶联多巴胺受体主要分布于额叶皮质和海马中,与学习记忆的调控密切相关。研究表明,磷酸肌醇偶联多巴胺受体激活可使 PLCβ 和位于内质网膜上三磷酸肌醇受体活化,促进钙释放,钙的释放使 CaMK II 和 CaMK IV 活化,而 CaMK II 和

CaMKIV的活化又可使 CREB 活化,从而改善认知功能^[11-12]。本研究结果表明在 CSD 过程中,海马内 D₁ R 的磷酸肌醇通路也受到了严重损伤,且 SKF38393 的干预能够通过磷酸肌醇通路提高 CREB 磷酸化水平进而改善。

SD 可使海马 CREB 磷酸化水平增加^[10],或者通过 Darpp32 间接活化。本研究结果显示,CSD 组大鼠海马内 PLCβ1、CaMK II α、CaMK IV mRNA 和 PLCβ1 蛋白的表达均较 TC 组降低,而给予 SKF38393 干预后大鼠海马内 CaMK IV mRNA 及其蛋白磷酸化表达均较 CSD 组增加。由此可见,MAPK 信号通路在一定程度上参与了 CSD 导致的海马超微结构损伤。

本研究结果显示,CSD 组大鼠海马内 *Rap1a*、*ERK1*、*ERK2* mRNA 和 ERK1/2 蛋白磷酸化表达较 TC 组均下降,而给予 SKF38393 干预后,*Rap1a*、*Rap1b* 和 *ERK1* mRNA 的表达较 CSD 组均增加,且给予 SKF38393 干预后大鼠海马内 *ERK2* mRNA 的表达有所上调(但与 CSD 组差异无统计学意义)。因此,MAPK 信号通路可能参与了 CSD 导致的海马超微结构损伤,但作用较小。

[参考文献]

[1] PHILIP P, SAGASPE P, PRAGUE M, TASSI P, CAPELLI A, BIOULAC B, et al. Acute versus chronic partial sleep deprivation in middle-aged people: differential effect on performance and sleepiness[J]. *Sleep*, 2012, 35: 997-1002.

[2] TASSI P, SCHIMCHOWITSCH S, ROHMER O, ELBAZ M, BONNEFOND A, SAGASPE P, et al. Effects of acute and chronic sleep deprivation on daytime alertness and cognitive performance of healthy snorers and non-snorers[J]. *Sleep Med*, 2012, 13: 29-35.

[3] SARIÑANA J, TONEGAWA S. Differentiation of forebrain and hippocampal dopamine 1-class receptors, D₁R and D₅R, in spatial learning and memory[J]. *Hippocampus*, 2016, 26: 76-86.

[4] SARIÑANA J, KITAMURA T, KÜNZLER P, SULTZMAN L, TONEGAWA S. Differential roles of

the dopamine 1-class receptors, D₁R and D₅R, in hippocampal dependent memory[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 8245-8250.

- [5] WEN X S, CHEN X M, RONG F, JING T, CHEN S, MA W L. The regulation of SKF38393 on the Dopamine and D₁ receptor expression in hippocampus during chronic REM sleep restriction [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2013, 19: 730-733.
- [6] MAROUN M, AKIRAV I. Differential involvement of dopamine D₁ receptor and MEK signaling pathway in the ventromedial prefrontal cortex in consolidation and reconsolidation of recognition memory [J]. *Learn Mem*, 2009, 16: 243-247.
- [7] ROOSTERMAN D. Agonist-dependent and -independent dopamine-1-like receptor signalling differentially regulates downstream effectors [J]. *FEBS J*, 2014, 281: 4792-4804.
- [8] XING B, KONG H, MENG X, WEI S G, XU M, LI S B. Dopamine D₁ but not receptor D₅ is critical for spatial learning and related signaling in the hippocampus [J]. *Neuroscience*, 2010, 169: 1511-1519.
- [9] WEN X, CHEN X, CHEN S, TAN Y, RONG F, ZHU J, et al. Influence of SKF38393 on changes of gene profile in rat prefrontal cortex during chronic paradoxical sleep deprivation [J]. *Behav Brain Res*, 2016, 304: 60-66.
- [10] LEE K W, HONG J H, CHOI I Y, CHE Y, LEE J K, YANG S D, et al. Impaired D₂ dopamine receptor function in mice lacking type 5 adenylyl cyclase [J]. *J Neurosci*, 2002, 22: 7931-7940.
- [11] GUAN Z, PENG X, FANG J. Sleep deprivation impairs spatial memory and decreases extracellular signal-regulated kinase phosphorylation in the hippocampus [J]. *Brain Res*, 2004, 1018: 38-47.
- [12] PANCHALINGAM S, UNDIS A S. SKF83959 exhibits biochemical agonism by stimulating [³⁵S] GTPγS binding and phosphoinositide hydrolysis in rat and monkey brain [J]. *Neuropharmacology*, 2001, 40: 826-837.

[本文编辑] 杨亚红, 孙岩