

# CB1受体在创伤性脑损伤小鼠空间学习和记忆损伤中的作用

马福兴 周忠清 薛世磊 解战兵 孔传祥

810003 陕西省西安市第二人民医院神经外科(马福兴、薛世磊、解战兵、孔传祥); 100093 北京, 首都医科大学三博脑科医院神经外科八病区(周忠清)

通信作者: 孔传祥, Email: 1085861561@qq.com

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2019.07.006

**【摘要】目的** 探究大麻素受体1(CB1)受体对创伤性脑损伤(TBI)小鼠空间学习和记忆能力的影响。**方法** 采用控制性脑震荡装置进行TBI造模。将小鼠分为对照组、TBI+溶剂组和TBI+AM281组, 对照组进行假手术处理并给予AM281溶剂, TBI+溶剂组(TBI+Vehicle)为损伤处理后给予AM281溶剂, TBI+AM281组为损伤处理后给予CB1受体拮抗剂AM281。采用Western blot检测CB1受体的蛋白表达水平以及NR2B蛋白表达水平。通过伊文思蓝染色检测小鼠的脑梗死区域质量和体积。通过水迷宫实验检测小鼠的空间学习和记忆能力。采用TUNEL染色标记凋亡神经元, 检测海马脑区神经元的凋亡水平。**结果** 在TBI造模后, TBI+溶剂组小鼠第1、3天CB1的表达水平相对对照组均有显著增加。在TBI+溶剂组中, 梗死区域质量和梗死体积与TBI+AM281组相比差异有统计学意义。TBI+溶剂组小鼠在测试阶段, 寻找到平台所用的时间相对对照组显著延长, 在平台所在象限的停留时间百分比相对对照组显著减少。而TBI+AM281组中, 相比给予溶剂组, 寻找到平台的时间显著减少, 在平台所在象限停留时间显著增加。在TUNEL染色中, TBI后给予AM281, 能显著降低神经元的凋亡百分比, 逆转TBI造成的NR2B表达水平降低。**结论** CB1受体促进TBI后小鼠空间学习和记忆能力受损过程, 可能是由NMDA受体亚基NR2B所介导。

**【关键词】** 创伤性脑损伤; 空间学习; 大麻素受体1; NR2B

## Effect of CB1 receptor on spatial learning and memory in mice with traumatic brain injury

Ma Fuxing, Zhou Zhongqing, Xue Shilei, Xie Zhanbing, Kong Chuanxiang

Department of Neurosurgery, the Second People's Hospital of Xining, Xining 810003, China (Ma FX, Xue SL, Xie ZB, Kong CX); Department of Neurosurgery, Sanbo Brain Hospital, Capital Medical University, Beijing 100093, China (Zhou ZQ)

Corresponding author: Kong Chuanxiang, Email: 1085861561@qq.com

**【Abstract】Objectives** To investigate the role of Cannabinoid receptor 1 (CB1) on the spatial learning and memory function in mice with traumatic brain injury (TBI). **Methods** The concussive head trauma device was used to induce experimental TBI models. Mice were divided into control group, TBI+Vehicle group and TBI+AM281 group. The control group received sham surgery and AM281 solvent. The TBI+Vehicle group received AM281 solvent after injury treatment, and the TBI+AM281 group received CB1 receptor antagonist AM281 after injury treatment. Western blot was used to detect the expression of CB1 receptor and NR2B protein. The mass and volume of cerebral infarction area in mice were detected by Evansland staining. The spatial learning and memory ability of mice were tested by water maze experiment. TUNEL staining was used to label apoptotic neurons and detect the tune level of neurons in the hippocampus. **Results** After TBI, the expression level of CB1 in the TBI+Vehicle group at day 1 and day 3 increased significantly compared with that in the control group. In the TBI+Vehicle group, there were significant differences in infarct area mass and infarct volume compared with the TBI+AM281 group. In the TBI+Vehicle group, compared with the control group, the time to find the platform prolonged significantly, and the percentage of stay time in the quadrant of the platform reduced significantly. In the TBI+AM281 group, compared with the solvent group, the time to find the platform reduced significantly, and the time to stay in the quadrant of the platform increased significantly. In TUNEL staining, the administration of AM281 after TBI significantly reduced the apoptosis percentage of neurons and reversed the decreased NR2B expression level caused by TBI. **Conclusions** CB1 receptor was involved in the process of impaired spatial learning and memory ability in mice after TBI. Administration of CB1 receptor

antagonist can reverse this injury, which may be mediated by NMDA receptor subunit NR2B.

**【Key words】** Traumatic brain injury; Spatial learning; Cannabinoid receptor 1; NR2B

创伤性脑损伤(trumatic brain injury, TBI)是一类全球性的疾病,每年新增TBI患者超过一千万<sup>[1]</sup>。TBI会损害患者的长期认知功能<sup>[2]</sup>,同时由于TBI的发病机制复杂,部分TBI患者认知功能在损伤后多年仍不能恢复,目前亟需阐明其发病机制,寻找治疗TBI后认知功能下降的靶点。

近些年,内源性大麻素(endocannabinoid, ECB)系统在神经保护方面的作用引起了研究人员的关注。该系统主要包含两类G蛋白耦联的膜受体,分别是CB1和CB2,以及一些磷脂来源的内源性配体。CB1受体在中枢神经系统中广泛表达,是丰度最高的G蛋白耦联受体之一,并且在海马谷氨酸能神经元和 $\gamma$ -氨基丁酸能神经元均有表达<sup>[3-5]</sup>。多项研究均发现,给予大麻素受体激动剂或者抑制大麻素降解,均可以显著降低脑水肿程度和梗死体积,同时可以减缓血脑屏障的损伤以及海马脑区神经元的凋亡程度<sup>[6-8]</sup>。

然而,也有研究发现大麻素可激活CB1受体,抑制CA3-CA1突触的兴奋性传递<sup>[9]</sup>。另有研究发现,在TBI动物的脑中,大麻素2-AG的表达水平显著增加<sup>[10]</sup>。海马脑区依赖的空间学习和记忆能力损害,与海马神经元长时程抑制(long term depression, LTD)密切相关。在一些研究中发现,LTD的产生需要N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体与CB1受体同时参与<sup>[11]</sup>。在中枢神经系统中,NMDA受体由NR2A亚基和NR2B亚基组成<sup>[12]</sup>。NR2A亚基被报道与神经保护作用相关,而NR2B与兴奋性毒性和细胞凋亡信号通路密切相关<sup>[13]</sup>。有研究发现NR2B,而非NR1或者NR2A,在脑损伤模型中表达显著降低<sup>[14]</sup>。但是2-AG、CB1和NR2B在TBI动物脑中表达变化具有何种含义,它们之间是否具有关联,如何对TBI动物的学习记忆功能等产生影响,目前均不清楚。

本研究通过Western blot和水迷宫等手段,初步探索了CB1受体对TBI小鼠空间学习和记忆能力的影响及其下游NR2B介导该过程的机制。

### 一、材料与方法

1. 动物:所有实验均通过西宁市第二人民医院动物研究伦理委员会和《中国实验动物管理条例》。从南京模式生物有限公司购买60只8周大的C57/BL6雄鼠,体重22~25 g。将小鼠随机分为TBI+溶剂组、TBI+AM281组和对照组,每组分别为20只,所有小鼠均饲养于动物房(20~22℃,湿度50%~55%,12 h明暗交替循环)。

2. 脑损伤模型<sup>[15]</sup>:采用控制性脑震荡装置(PinPoint™PCI3000, Hatteras Instruments Inc, 美国)进行TBI造模。该装置由一个金属管(内径13 mm)构成,垂直放置于小鼠头部上方。将小鼠固定于立体定位仪(Stoelting, 美国),在损伤前,将小鼠用异氟烷麻醉。一个重量40 g的金属从顶部沿管子(60 cm)落下,并击中头骨之间的中心区域冠状线和人字缝。用一块海绵支撑着头部,在撞击结束后,缝合小鼠头皮,放于保温箱内,等小鼠从麻醉中醒来放回至原鼠笼。假手术组小鼠也用异氟烷麻醉以及其余手术操作,但不进行撞击操作。

3. 给药方法:购买CB1受体拮抗剂AM281<sup>[16]</sup>(Cayman, 美国),用混合溶剂(吐温80:二甲亚砜:生理盐水=1:1:18, V/V)进行溶解。TBI+AM281组小鼠在造模后30 min以及术后连续7 d每天腹腔注射3 mg/kg AM281, TBI+溶剂组同时腹腔注射等量溶剂。

4. 伊文思蓝(Evans Blue, EB)染色:在TBI后第7天,药物注射结束后,随机选取TBI+溶剂组、TBI+AM281组小鼠各4只。在0.9% NaCl溶液中制备伊文思蓝, TBI后24 h尾静脉注射(3 ml/kg, 40 mg/kg),持续1 min。注射结束后2 h将小鼠处死,取海马区脑组织。将脑组织置于1.5 ml离心管中,加入1 ml PBS,迅速用组织匀浆机将脑组织制成匀浆,1 000×g离心后取上清,加入等量三氯乙酸,在4℃孵育过夜,400×g离心15 min后,在620 nm处测定EB含量。数据表示为EB ng/g湿脑重量。采用EB染色法,可以检测TBI后小鼠的梗死区域体积并测定梗死区域的质量,以此衡量AM281对脑外伤的保护作用。

5. Morris水迷宫<sup>[17]</sup>:随机选取对照组、TBI+溶剂组、TBI+AM281组小鼠各4只,在TBI后第3天开始进行水迷宫实验。Morris水迷宫设备是一个圆形的水箱,里面装满了水,加入钛粉使水变成白色。在整个实验过程中,在水箱的1象限,水面下1 cm处隐藏一个平台(直径为10 cm)。在每一项实验中,让小鼠在60 s内找到隐藏的平台;如果未能在60 s内找到平台,则手动引导小鼠到隐藏的平台,并在那里停留30 s。连续4 d每天进行4次训练实验。在每一次实验中,都要计算小鼠寻找到平台的时间(潜时)和小鼠的游泳速度。在第5~7天,移除隐藏平台测试空间记忆。在此项研究中,移除平台,计算小鼠找到平台的时间、通过平台所在象限的次

数、游泳速度和在目标象限花费的时间。所有数据采集通过视频跟踪系统(SMART, Panlab Harvard Apparatus, Bioscience Company)。

6. Western blot: 在检测CB1蛋白表达水平实验中,随机选取TBI+溶剂组术后第1、3、7天的小鼠各4只,对照组小鼠4只。分离每只小鼠的海马组织置于冰上,用添加蛋白酶抑制剂( $1 \mu\text{g/ml}$  Laprotinin,  $1 \mu\text{g/ml}$  leupeptin,  $1 \mu\text{g/ml}$  pepstatin A) 的RIPA ( $10 \text{ mmol/L}$  Tris-HCl,  $\text{pH}$  7.4,  $150 \text{ mmol/L}$  NaCl,  $2 \text{ mmol/L}$  EDTA,  $0.5\%$  Nonidet P-40) 进行组织块裂解,  $12\ 000 \times \text{g}$  离心  $10 \text{ min}$ , 用蛋白定量检测试剂盒(Pierce, 美国)对总蛋白浓度进行定量分析。提取  $20 \mu\text{g}$  蛋白样本用SDS-PAGE凝胶分离,转膜至PVDF膜(Bio-Rad, 美国)上;将条带用 $4\%$  BSA进行封闭,一抗在 $4 \text{ }^\circ\text{C}$  孵育过夜,二抗室温 $1 \text{ h}$ ,采用化学发光仪(Tanon, 中国)进行条带拍摄。

在NR2B蛋白表达水平实验中,随机选取对照组、TBI+溶剂组、TBI+AM281组小鼠各4只,在水迷宫实验结束后立即取脑,检测NR2B蛋白表达变化,步骤同上。所用一抗为: NR2B抗体( $1:1\ 000$ , Abcam, 美国), CB1抗体( $1:1\ 000$ , Abcam, 美国),  $\beta$ -actin 抗体( $1:5\ 000$ , Abcam, 美国)。

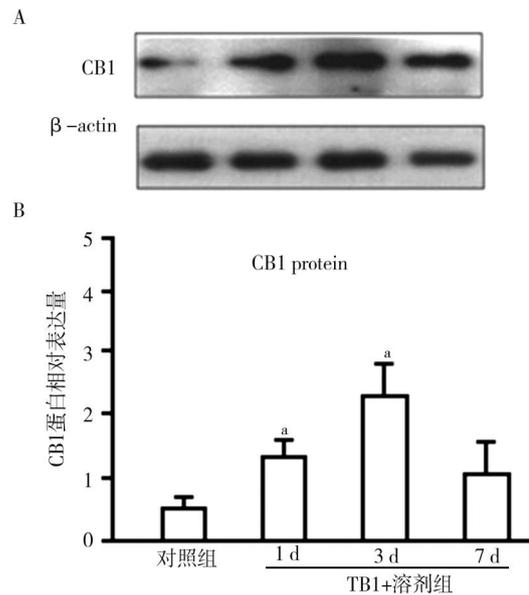
7. TUNEL染色及共聚焦成像: 随机选取对照组、TBI+溶剂组、TBI+AM281组小鼠各4只。在水迷宫训练结束后,将所有小鼠取脑后,用 $4\%$ 多聚甲醛进行固定,在 $4 \text{ }^\circ\text{C}$  过夜,用 $30\%$ 蔗糖溶液脱水至沉底。用冰冻切片机(Leica, VT 1000S, 美国)切成  $30 \mu\text{m}$  厚脑片,进行染色。所用TUNEL染色试剂盒为TUNEL Alexa 488 Assay Kit (ThermoFisher Scientific, 美国),根据说明书进行染色步骤,用含DAPI的封片液进行封片。在共聚焦(FV1000, Olympus, 日本)下进行成像。在共聚焦显微镜下随机拍摄海马脑区的八个不同位置,统计其中总的细胞数(DAPI个数)及TUNEL阳性的细胞个数,计算TUNEL/DAPI的百分比,即为神经元的凋亡百分比。

8. 统计学方法: 所有数据均用均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。采用GraphPad Prism 5统计软件(GraphPad software Inc., 美国)进行单因素方差分析(one-way analysis of variance, one-way ANOVA)和重复测量的双向方差分析(two-way ANOVA),确定结果测量的差异。采用Tukey单因素方差分析检验和Bonferroni双因素方差分析检验进行多重比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 二、结果

1. 小鼠TBI造模后海马区脑组织、CB1蛋白表达水平: 见图1。TBI+溶剂组小鼠CB1的蛋白表达水

平在第1、3天分别为  $1.18 \pm 0.22$  和  $2.19 \pm 0.39$ , 相比对照组差异有统计学意义( $t=4.51$ ,  $P < 0.05$ )。

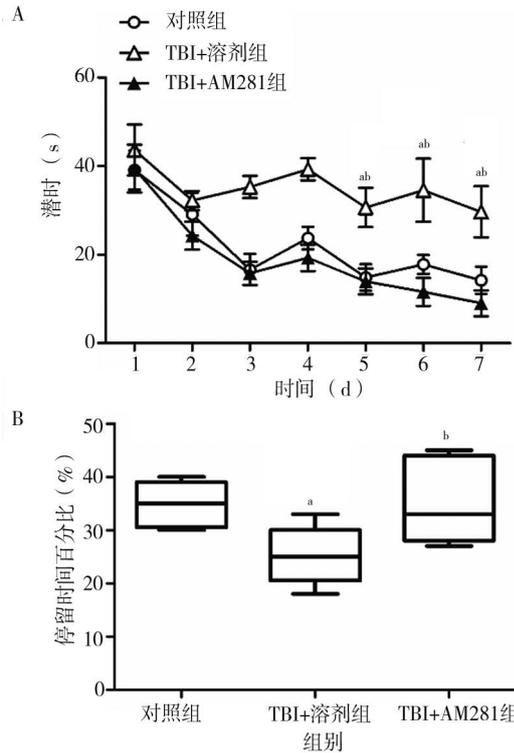


注: A CB1蛋白条带; B 定量测定; 与对照组比较,  $^*P < 0.05$

图1 TBI后海马区脑组织CB1蛋白表达水平

2. CB1受体拮抗剂对TBI后脑损伤的影响: 见图2(见本期封三)。在TBI+溶剂组中,单位质量脑组织中EB染色部位脑组织的质量( $\text{ng}$ )与湿脑组织的质量( $\text{g}$ )比值为( $0.172 \pm 0.013$ )  $\text{ng/g}$ , 而TBI+AM281组为( $0.101 \pm 0.024$ )  $\text{ng/g}$ , 差异有统计学意义( $t=5.20$ ,  $P < 0.01$ ); 通过冰冻切片后,计算梗死区域的体积,在TBI+溶剂组,梗死体积为( $6.799 \pm 0.42$ )  $\text{mm}^3$ , 而在TBI+AM281组中为( $4.002 \pm 0.51$ )  $\text{mm}^3$ , 差异有统计学意义( $t=8.47$ ,  $P < 0.01$ )。

3. CB1受体拮抗剂对TBI引起的空间学习和记忆功能损伤的影响: 见图3。结果显示, TBI+溶剂组小鼠在训练第5~7天的测试阶段,寻找到平台所用的时间相比对照组显著延长[第5天: ( $30.5 \pm 4.7$ ) s 比 ( $15.1 \pm 2.2$ ) s,  $t=5.93$ ; 第6天: ( $32.4 \pm 8.5$ ) s 比 ( $18.8 \pm 4.1$ ) s,  $t=2.82$ ; 第7天: ( $29.2 \pm 5.9$ ) s 比 ( $17.1 \pm 3.9$ ) s,  $t=32.4$ , 均  $P < 0.05$ ], 在平台所在象限的停留时间百分比相比对照组降低[( $23.8 \pm 2.3$ )% 比 ( $34.8 \pm 1.6$ )%;  $t=7.85$ ,  $P < 0.01$ ]。而在给予CB1受体拮抗剂AM281组(TBI+AM281)相比TBI+溶剂组,寻找到平台的时间显著减少[第5天: ( $14.7 \pm 2.0$ ) s 比 ( $30.5 \pm 4.7$ ) s,  $t=6.19$ ; 第6天: ( $16.3 \pm 4.1$ ) s 比 ( $32.4 \pm 8.5$ ) s,  $t=3.41$ ; 第7天: ( $16.2 \pm 3.7$ ) s 比 ( $29.2 \pm 5.9$ ) s,  $t=3.73$ ; 均  $P < 0.05$ ], 在平台所在象限停留时间相比溶剂组显著增加[( $31.2 \pm 1.6$ )% 比 ( $23.8 \pm 2.3$ )%;  $t=5.28$ ,  $P < 0.05$ ]。



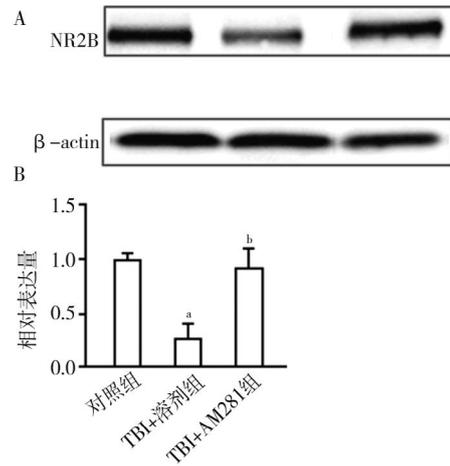
注: A 小鼠从入水点游到平台的潜时; B 小鼠在平台所在象限的停留时间百分比; 与对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ ; 与TBI+溶剂组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$

图3 CB1受体拮抗剂对TBI引起的空间学习和记忆功能损伤的影响

4. CB1受体拮抗剂对TBI引起的海马神经元凋亡的影响: 见图4(见本期封三)。在对照组中, 神经元凋亡百分比为(4.91 ± 0.82)%, TBI+溶剂组为(20.03 ± 2.37)%( $t=12.06, P < 0.01$ ), 而在TBI后给予CB1受体拮抗剂AM281, 能显著降低神经元的凋亡百分比[(8.83 ± 2.13)%比(4.91 ± 0.82)%;  $t=7.03, P < 0.01$  ]。

5. CB1受体拮抗剂对TBI引起的海马脑区NR2B表达降低的影响: 见图5。在对照组, NR2B的蛋白相对表达水平为1.01 ± 0.09, 而TBI+溶剂组相对表达水平为0.22 ± 0.16( $t=8.57, P < 0.01$ ); 给予AM281后, 可以显著逆转TBI造成的NR2B表达水平降低[(1.137 ± 0.26)比(0.22 ± 0.16);  $t=5.52, P < 0.05$  ]。

讨论 本研究表明, 通过抑制CB1受体可以使脑损伤的最常见认知功能障碍, 即空间学习和记忆的损伤得到显著改善。此外, 一种新型的TBI诱导的海马依赖性空间学习和记忆障碍, 对体内ECs(谷氨酰半胱氨酸合成酶, Glutamine cysteine synthetase)有明显增加的作用。本研究结果表明, 体内TBI诱导的2-AG的增加会通过CB1受体降低海马内NMDA受体亚基NR2B的表达, 最终导致空间学习和记忆障碍, 通过CB1受体拮抗剂AM281, 可以显著改善TBI小鼠的空间学习和记忆能力, 发挥神经保护作用。



注: A NR2B的蛋白表达条带; B 对A中NR2B蛋白表达水平的定量分析; 与对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ ; 与TBI+溶剂组比较, <sup>b</sup> $P < 0.01$

图5 CB1受体拮抗剂对TBI引起的NMDA受体亚基NR2B表达降低的影响

本研究结果显示, TBI后CB1的蛋白表达水平在TBI术后1、3天, 相比对照组显著增加, 但是在第7天比对照组略有增加而差异无统计学意义。以上结果说明TBI会影响海马脑区CB1的表达变化, 在第7天CB1的表达水平未恢复到对照组的表达水平, 略有增加, 可能是与观察点的选择有关, 应当在7d后再取时间点(如第14天)取脑检测CB1蛋白的表达水平进行验证; 也有可能是由于TBI造成小鼠颅脑损伤, 虽然在术后小鼠有一定自我修复能力, 但是未能完全恢复, 导致小鼠在第7天CB1蛋白表达水平不能降低至对照组的水平, 这一结果可以从水迷宫及TUNEL染色中进行验证, 即在第7天, TBI+溶剂组小鼠相比对照组, 仍存在空间记忆损伤和较多凋亡的神经元等现象。

由于在TBI后CB1的表达水平显著增加, 且TBI后小鼠的学习、记忆能力相比正常对照组小鼠显著下降。为了验证增加的CB1在TBI后对小鼠学习记忆功能的作用, 给予TBI小鼠CB1受体拮抗剂AM281, 通过水迷宫检测小鼠对平台的寻找时间、探索次数和百分比等发现, 给予AM281, 可以显著逆转TBI的损害作用。同时, 通过TUNEL染色标记海马脑区的凋亡神经元, 也发现TBI会显著促进神经元的凋亡水平, 而AM281能降低神经元的凋亡比例。

在本研究中发现, TBI小鼠海马脑区的NR2B表达水平显著降低, 而给予AM281可以逆转NR2B表达水平变化。以上结果提示CB1受体促进了TBI小鼠学习和记忆功能损害, 增加了海马脑区神经元的凋亡比例, 并且这种作用可能是由下游NR2B表达变化所介导的。

有研究发现大麻素可以调控谷氨酸受体的表达水平<sup>[18]</sup>,但是具体是如何调控的,目前没有定论。在一项研究中,给予单酰甘油酯酶(monoacylglycerol lipase, MAGL)抑制剂JZL184可以逆转TBI诱导的小鼠NR2B表达水平降低<sup>[19]</sup>,此研究结果与本研究结论相反,可能是由于MAGL下游作用受体尚不明确,该研究发现抑制MAGL后,产生的抗感染作用和神经保护作用不仅仅只是由CB1或者CB2受体所介导<sup>[20]</sup>。而拮抗CB1受体,只能部分阻断TBI后2-AG诱导的神经保护作用<sup>[21]</sup>。

本研究也有一些限制性。首先,只检测了TBI对海马脑区NR2B的作用,而没有检测其他NMDA受体亚基的表达变化。其次,使用了CB1受体拮抗剂AM281去探索CB1受体对TBI后小鼠空间学习记忆能力的影响,而没有在更具有特异性的CB1敲除动物上去进行验证。

总之,本研究发现了CB1受体参与TBI后小鼠空间学习和记忆能力受损过程,给予CB1受体拮抗剂可以逆转此损伤,此过程可能是由于NMDA受体亚基NR2B所介导。此研究结果提示CB1受体可能成为TBI诱导海马损伤的潜在靶点。

**利益冲突** 文章所有作者共同认可文章无相关利益冲突

**作者贡献声明** 试验设计为马福兴、孔传祥,研究实施、资料收集为周忠清、薛世磊、解战兵,论文撰写及修订为马福兴、孔传祥审校

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Morganti-Kossmann MC, Sempell BD, Hellewell SC, et al. The complexity of neuroinflammation consequent to traumatic brain injury: from research evidence to potential treatments[ J ]. *Acta Neuropathol*, 2019, 137(5): 731-755. DOI: 10.1007/s00401-018-1944-6.
- [ 2 ] Gardner RC, Langa KM, Yaffe K. Subjective and objective cognitive function among older adults with a history of traumatic brain injury: A population-based cohort study[ J ]. *PLoS Med*, 2017, 14(3): e1002246. DOI: 10.1371/journal.pmed.1002246.
- [ 3 ] Di Marzo V, Stella N, Zimmer A. Endocannabinoid signalling and the deteriorating brain[ J ]. *Nat Rev Neurosci*, 2015, 16(1): 30-42. DOI: 10.1038/nrn3876.
- [ 4 ] Parsons LH, Hurd YL. Endocannabinoid signalling in reward and addiction[ J ]. *Nat Rev Neurosci*, 2015, 16(10): 579-594. DOI: 10.1038/nrn4004.
- [ 5 ] Katona I, Freund TF. Multiple functions of endocannabinoid signaling in the brain[ J ]. *Annu Rev Neurosci*, 2012, 35: 529-558. DOI: 10.1146/annurev-neuro-062111-150420.
- [ 6 ] Gorzkiewicz A, Szemraj J. Brain endocannabinoid signaling exhibits remarkable complexity[ J ]. *Brain Res Bull*, 2018, 142: 33-46. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2018.06.012.
- [ 7 ] Katz PS, Sulzer JK, Impastato RA, et al. Endocannabinoid degradation inhibition improves neurobehavioral function, blood-brain barrier integrity, and neuroinflammation following mild traumatic brain injury[ J ]. *J Neurotrauma*, 2015, 32(5): 297-306. DOI: 10.1089/neu.2014.3508.
- [ 8 ] Mayeux J, Katz P, Edwards S, et al. Inhibition of Endocannabinoid Degradation Improves Outcomes from Mild Traumatic Brain Injury: A Mechanistic Role for Synaptic Hyperexcitability[ J ]. *J Neurotrauma*, 2017, 34(2): 436-443. DOI: 10.1089/neu.2016.4452.
- [ 9 ] Hoffman AF, Laaris N, Kawamura M, et al. Control of cannabinoid CB1 receptor function on glutamate axon terminals by endogenous adenosine acting at A1 receptors[ J ]. *J Neurosci*, 2010, 30(2): 545-555. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4920-09.2010.
- [ 10 ] Panikashvili D, Simeonidou C, Ben-Shabat S, et al. An endogenous cannabinoid (2-AG) is neuroprotective after brain injury[ J ]. *Nature*, 2001, 413(6855): 527-531. DOI: 10.1038/35097089.
- [ 11 ] Sjöström PJ, Turrigiano GG, Nelson SB. Neocortical LTD via coincident activation of presynaptic NMDA and cannabinoid receptors[ J ]. *Neuron*, 2003, 39(4): 641-654. DOI: 10.1016/s0896-6273(03)00476-8.
- [ 12 ] Greger IH, Mayer ML. Structural biology of glutamate receptor ion channels: towards an understanding of mechanism[ J ]. *Curr Opin Struct Biol*, 2019, 57: 185-195. DOI: 10.1016/j.sbi.2019.05.004.
- [ 13 ] Brassai A, Suvanjev RG, Bán EG, et al. Role of synaptic and nonsynaptic glutamate receptors in ischaemia induced neurotoxicity[ J ]. *Brain Res Bull*, 2015, 112: 1-6. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2014.12.007.
- [ 14 ] Lu H, Ma K, Jin L, et al. 17 $\beta$ -estradiol rescues damages following traumatic brain injury from molecule to behavior in mice[ J ]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(2): 1712-1722. DOI: 10.1002/jcp.26083.
- [ 15 ] Zhang YP, Cai J, Shields LB, et al. Traumatic brain injury using mouse models[ J ]. *Transl Stroke Res*, 2014, 5(4): 454-471. DOI: 10.1007/s12975-014-0327-0.
- [ 16 ] Han J, Kesner P, Metna-Laurent M, et al. Acute cannabinoids impair working memory through astroglial CB1 receptor modulation of hippocampal LTD[ J ]. *Cell*, 2012, 148(5): 1039-1050. DOI: 10.1016/j.cell.2012.01.037.
- [ 17 ] Deng-Bryant Y, Leung LY, Caudle K, et al. Cognitive Evaluation Using Morris Water Maze in Neurotrauma[ J ]. *Methods Mol Biol*, 2016, 1462: 539-551. DOI: 10.1007/978-1-4939-3816-2\_29.
- [ 18 ] Wang X, Wang Y, Zhang C, et al. CB1 receptor antagonism prevents long-term hyperexcitability after head injury by regulation of dynorphin-KOR system and mGluR5 in rat hippocampus[ J ]. *Brain Res*, 2016, 1646: 174-181. DOI: 10.1016/j.brainres.2016.05.055.
- [ 19 ] Zhang J, Teng Z, Song Y, et al. Inhibition of monoacylglycerol lipase prevents chronic traumatic encephalopathy-like neuropathology in a mouse model of repetitive mild closed head injury[ J ]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2015, 35(4): 706. DOI: 10.1038/jcbfm.2014.247.
- [ 20 ] Piro JR, Benjamin DI, Duerr JM, et al. A dysregulated endocannabinoid-eicosanoid network supports pathogenesis in a mouse model of Alzheimer's disease[ J ]. *Cell Rep*, 2012, 1(6): 617-623. DOI: 10.1016/j.celrep.2012.05.001.
- [ 21 ] Schurman LD, Lichtman AH. Endocannabinoids: A Promising Impact for Traumatic Brain Injury[ J ]. *Front Pharmacol*, 2017, 8(2): 69. DOI: 10.3389/fphar.2017.00069.

(收稿日期: 2019-06-12)

(本文编辑: 戚红丹)