

条件性位置偏爱形成对小鼠吗啡行为敏化的影响

孙 婷¹, 邹赢铎², 郑杰民², 黄 矛², 张晓冬² (1. 海军总医院药剂科, 北京 100048; 2 第二军医大学基础部新药评价中心, 上海 200433)

[摘要] 目的 研究条件性位置偏爱对小鼠吗啡行为敏化的影响。方法 应用计算机视频分析系统观察吗啡和氟哌啶醇对雄性小鼠单位时间内的总活动度的影响。同时观察条件性位置偏爱形成后, 小鼠单位时间内的总活动度、平均速度和穿梭次数的改变。结果 吗啡给药后显著增加小鼠单位时间内的总活动度, 氟哌啶醇使小鼠总活动度减少, 并且对抗吗啡引起的总活动度的增加。条件性位置偏爱形成后, 吗啡组小鼠在白箱停留的时间显著增加, 但总活动度、平均速度和穿梭次数与训练前相比显著减少。结论 氟哌啶醇可抑制吗啡诱导的行为敏化, 条件性位置偏爱形成后可能引起多巴胺系统功能降低。

[关键词] 吗啡; 条件性位置偏爱; 行为敏化

[中图分类号] R965 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006 - 0111 (2010) 01 - 0023 - 03

Effect of development of conditioned place preference on behavioral sensitization induced by morphine in mice

SUN Ting¹, ZOU Ying-xin², ZHENG Jie-min², HUANG Mao², ZHANG Xiao-dong² (1. Department of Pharmacy, Navy General Hospital, Beijing 100048, China; 2 Center of New Drug Evaluation, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effect of development of conditioned place preference on behavioral sensitization induced by morphine in mice. **Methods** Male mice were used as subjects. Total range of motion after treated with morphine and haloperidol were evaluated by locomotion activity video analysis system. Total range of motion, average velocity and number of shuttle were also evaluated after the psychical dependence established. **Results** Distance travelled was significantly increased after administration of morphine. Distance travelled was significantly decreased in haloperidol group. Haloperidol could intercept hyperlocomotion induced by morphine. After treated with morphine, time to the morphine side significantly increased. Distance travelled, average velocity and number of shuttle also decreased significantly. **Conclusion** Haloperidol could suppress behavioral sensitization induced by morphine. The dopamine system functions may be inhibited after conditioned place preference established.

[Key words] morphine; conditioned place preference; behavioral sensitization

阿片类药物依赖是当今全球性公害, 如何控制主要与复发有关的精神依赖性和脱毒后稽延性症状是目前研究的热点和难点。行为敏化是指反复使用阿片类、苯丙胺和可卡因等精神活性物质后增强了药物期望的效果或对某些行为效应的增强作用, 它的形成和表达与药物成瘾有着重要的关系^[1]。研究表明, 行为敏化与精神依赖和复吸行为都密切相关^[2,3]。

条件性位置偏爱是根据巴甫洛夫的条件反射学说, 把奖赏刺激与某个特定的非奖赏性条件刺激反复联系之后, 后者便可获得奖赏特性, 是研究药物精神依赖性重要模型之一。本实验研究吗啡 (morphine, Mor) 对小鼠行为敏化的影响以及多巴胺受体拮抗剂氟哌啶醇 (haloperidol, Hal) 的拮抗作用, 同时

观察了吗啡诱导的条件性位置偏爱形成后小鼠行为敏化的改变。

1 材料与方法

1.1 材料 昆明株小鼠, 上海复旦大学医学院实验动物部 (清洁级), 实验动物质量合格证号, SCXK (沪) 2002-0002。购入时体重: 18 ~ 22 g, 性别: 雄性。DigBeh-LM16小鼠自主活动计算机视频分析系统, 上海吉量软件科技有限公司。盐酸吗啡: 青海制药厂。氟哌啶醇: 上海旭东海普药业有限公司。

1.2 方法

1.2.1 小鼠按体重随机分成 4 组, 每组 10 只, 分别给予生理盐水、4.0 mg/kg Mor、0.2 mg/kg Hal 和 4.0 mg/kg Mor + 0.2 mg/kg Hal。观察给药前和给药 15、30、60、90、120 和 180 min 后小鼠在 2 min 内的总活动度。

1.2.2 首先挑选小鼠 在打开条件位置偏爱两箱

[作者简介] 孙婷 (1982-), 女, 药师。

[通讯作者] 张晓冬. E-mail: xdzhang@smmu.edu.cn

闸门的情况下,将小鼠放于中间闸门下,同时采集视频,采样速度:用 15 帧/s 并允许探索黑白箱 2 min,然后记录小鼠 15 min内在黑箱中的停留时间。选择明显偏爱黑箱的小鼠为实验用小鼠。然后将实验用小鼠按体重随机分组。上午皮下注射 Mor 4.0 mg/kg后放入白箱,下午皮下注射生理盐水后放入黑箱。对照组上下午均给予生理盐水。每次在箱内停留 50 min,连续 7 d。小鼠经吗啡训练将会改变其天然的偏爱,由偏爱黑箱转为偏爱白箱。完成训练后,停止给药。训练后第一天,将其单只放于穿梭箱内,打开两箱门,允许探索黑白箱 2 min,之后观察小鼠 15 min内在各箱的停留时间。同时分析小鼠在

此期间的总活动度、平均速度和穿梭次数。

1.3 统计学处理 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t*检验,多组间用方差分析检验其显著性,多重比较采用 LSD法。

2 结果

2.1 总活动度的改变 Mor在给药后的 30 min到 180 min与生理盐水组相比显著增加小鼠活动的总路程,而 Hal在给药后的 30 min到 180 min与生理盐水组相比使小鼠活动的总路程显著减少。Hal与 Mor共同给药, Hal可以拮抗 Mor诱导的自发活动的增加。结果见表 1。

表 1 Mor和 Hal对小鼠单位时间内总活动度的影响 ($n=10, \bar{x} \pm s, m/2 min$)

药物	给药前	给药后 (min)				
		15	30	60	120	180
saline	2.3 ± 0.5	1.6 ± 0.8	1.4 ± 0.6	1.5 ± 0.9	2.0 ± 0.6	1.7 ± 0.6
Mor	2.4 ± 0.8	2.1 ± 0.7	2.9 ± 0.8 ²⁾	3.7 ± 0.9 ²⁾	3.4 ± 0.6 ²⁾	2.7 ± 0.6 ²⁾
Hal	2.2 ± 0.6	1.0 ± 1.2 ³⁾	0.6 ± 0.5 ¹⁾⁴⁾	0.7 ± 0.5 ¹⁾⁴⁾	0.4 ± 0.3 ²⁾⁴⁾	0.9 ± 0.3 ²⁾⁴⁾
Mor+Hal	2.2 ± 0.3	1.1 ± 0.4 ⁴⁾	1.1 ± 0.4 ⁴⁾	0.9 ± 0.6 ⁴⁾	0.9 ± 0.6 ²⁾⁴⁾⁵⁾	0.8 ± 0.3 ²⁾⁴⁾

¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, 与同时间点对照组比较; ³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$, 与同时间点 Mor组比较; ⁵⁾ $P < 0.05$, 与同时间点 Hal组比较

2.2 条件性位置偏爱的形成对小鼠自发活动的影响 Mor给药训练 7 d后,小鼠在白箱停留的时间与训练前相比显著增加,显示条件性位置偏爱已形成。生理盐水对照组训练前后在白箱停留时间无显著改变。Mor组小鼠活动的总路程、平均速度和穿梭次数与训练前相比显著减少,生理盐水对照组活动的总路程、平均速度和穿梭次数与训练前训练前后未见显著改变。结果见表 2。

表 2 条件性位置偏爱的形成对小鼠自发活动的影响 ($n=32, \bar{x} \pm s$)

组别	总活动度 (m/15 min)	白箱时间 (s)	平均速度 (mm/s)	穿梭次数	
对照组	训练前	23.4 ± 2.4	372 ± 67	26.0 ± 2.7	47 ± 16
	训练后	23.6 ± 5.0	404 ± 90	26.2 ± 5.6	43 ± 14
Mor	训练前	23.7 ± 3.9	383 ± 60	26.3 ± 4.3	48 ± 18
	训练后	21.7 ± 3.7 ¹⁾	543 ± 108 ²⁾	24.1 ± 4.1 ¹⁾	37 ± 11 ²⁾

¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ vs 同组训练前

3 讨论

目前普遍认为行为敏化依赖于中脑边缘多巴胺系统 (dopamine, DA), Robinson等^[4]的激励敏化理论认为,精神活性物质可影响伏膈核 (nucleus accumbens, NAc)等相关脑区,使这些神经环路处于持续超敏状态,表现为反复用药使其某些效应的增强。因此行为敏化可能与 NAc内 DA释放增加有关。实验结果显示吗啡在给药后的 30 min到 180 min显著增加小鼠单位时间

内活动的总路程,而 DA受体拮抗剂氟哌啶醇使小鼠单位时间内活动的总路程显著减少,并能抑制吗啡诱导的行为敏化。提示吗啡诱导行为敏化可能和 NAc内 DA的改变密切相关。

吗啡诱导的奖赏效应和行为敏化产生的机制有可能重叠,至少部分都是由中脑边缘 DA系统介导的^[5,6]。而奖赏效应是造成精神依赖和形成复发的主要原因之一^[7]。同时阿片类药物激活奖赏神经通路,诱导条件性位置偏爱的形成,是形成条件信号的关联、诱导渴求或者觅药行为的神经基础^[8]。实验结果显示吗啡给药训练 7 d,精神依赖形成,表现为对伴有 Mor的白箱一侧条件性位置偏爱的出现。研究发现,很多成瘾者在戒断症状出现时或停药后短期内均出现 DA系统功能降低的情况^[9]。并且药物成瘾的神经影像学研究发现,成瘾者存在 DA受体水平降低现象^[10]。我们实验结果显示 Mor诱导精神依赖形成后,在第 8天不给药的情况下测试条件性位置偏爱,观测到 Mor组小鼠活动的总路程、平均速度和穿梭次数与训练前相比显著减少,提示吗啡在精神依赖形成同时,停药时 DA系统功能降低,表现为小鼠自发活动的降低和探究行为的减少。在戒断症状严重的早期,成瘾者的渴求感及觅药动机往往明显增强,复发的风险相当高,DA系统功能低下状态在其中起重要的中介作用,是今后研究精神依赖和复发可以关注的重点之一。

(下转第 72 页)

结果的记录一定要真实准确,哪怕是实验失败也不能改编数据,结果分析一定注意找到问题的关键和具体问题具体分析。实验的心得体会主要是了解学生对实验课教学方式和过程是否感到合适,有没有更好的方法,有时候学生想到的东西是老师永远不可能想到的,这取决于双方看待问题的角度,这样,既增强和学生们的交流,又能及时掌握他们的想法和要求,对以后的实验教学方法改进提供基础。

目前对实验课教学的探讨有很多,我们仅有一些浅显的心得和体会,药理学在不断地进步和发展,学生思维也在不断的变化和发展,只有不断地学习和摸索才能紧跟学科的发展,紧跟学生的思维,加强教学的科学性、创新性和互动性,才能更好地完成药理学实验课的使命。

(上接第 24页)

【参考文献】

- [1] 刘胜,周文华,杨国栋. 成瘾药物行为敏化及机制[J]. 中国药物依赖性杂志, 2004, 10(6): 337.
- [2] 邹凤,杨征,范明,等. 归元片对小鼠吗啡行为敏化的影响[J]. 中国药物依赖性杂志, 2003, 12(4): 265.
- [3] 陈为升,刘芳,周琼,等. 药物成瘾的机制[J]. 中国药物滥用防治杂志, 2004, 10(5): 297.
- [4] Robinson TE, Berridge KC. Addiction[J]. Annu Rev Psychol, 2003, 54: 25.
- [5] 魏晓莉. 阿片精神依赖和复发的神经生物学研究进展[J]. 国外医学·药学分册, 2004, 31(6): 341.

(上接第 33页)

但接受 RAP 治疗的移植受者 EPO 反而较高,只能说明 RBC 的下降对其产生了负反馈作用, EPO 代偿性升高。升高的 EPO 可刺激 RBC 加速生成,加快骨髓造血的运转周期,以纠正患者的贫血症状。在此运转过程中,不成熟的红细胞会加速从骨髓释入外周血,使外周血中网织红细胞增多。但 RAP 方案组肾移植受者的外周血中网织红细胞并未较 FK506 方案组增多,此结果进一步证实了 RAP 对贫血的影响主要是直接抑制了骨髓的造血功能 - 即使 EPO 升高也未能促进 RBC 的生成。

综上所述,通过对接受两种不同免疫抑制治疗方案的肾移植受者外周血细胞、网织红细胞和 EPO 的比较分析,证实 RAP 并非通过 EPO 途径作用于红细胞的生成,而是直接抑制了骨髓造血。FK506 方案在此研究中对外周血的副作用明显少于 RAP

【参考文献】

- [1] 黄庆芳,刘意,杨红,等. 药理学实验教学的几点体会[J]. 中国实用医药, 2009, 4(15): 255.
- [2] 李清君,李文斌,张敏. 改进病理生理实验课教学,加强学生能力培养[J]. 中国高等医学教育, 2007(2): 63.
- [3] 张永娟,杨黎辉. 在生理学教学中贯彻启发式教学思想的做法[J]. 广东医学院学报, 2009, 27(3): 335.
- [4] 罗平,颜伟,董燕等. 药理学实验课教学方法的改革[J]. 现代医药卫生, 2007, 23(18): 2833.
- [5] 周良,谢世彬,谢行. 谈谈药理学实验课的几个问题[J]. 中华当代医药, 2004, 2(11): 104.

[收稿日期] 2009-12-10

[修回日期] 2009-12-29

- [6] 肖琳,谭北平,李勇辉,等. 成瘾现象中的奖赏效应和神经系统适应性[J]. 中国药物依赖性杂志, 2004, 13(4): 241.
- [7] Weiss F. Neurobiology of craving, conditioned reward and relapse[J]. Curr Opin Pharmacol, 2005, 5(1): 9.
- [8] Kelley AE, Berridge KC. The neuroscience of natural rewards: relevance to addictive drugs[J]. J Neurosci, 2002, 22(9): 3306.
- [9] 汤宜朗. 药物依赖的神经生物学机制研究进展[J]. 中国药物依赖性杂志, 2004, 13(3): 169.
- [10] Volkow ND, Fowler JS, Wang GJ. Imaging studies on the role of dopamine in cocaine reinforcement and addiction in humans[J]. J Psychopharmacol, 1999, 13(4): 337.

[收稿日期] 2009-11-02

[修回日期] 2009-12-05

方案。故在对移植受者采用 RAP 治疗方案时,应充分考虑其贫血发生的可能。

【参考文献】

- [1] 李民. 雷帕霉素的作用机制和临床应用[J]. 国外医学·药学分册, 2002, 29(3): 162.
- [2] Strauss L, Whiteside TL, Knights A, et al. Selective survival of naturally occurring human CD4 + CD25 + Foxp3 + regulatory T cells cultured with rapamycin[J]. J Immunol, 2007, 178(1): 320.
- [3] 陈栋,张伟杰,陈知水,等. 肾移植受者术后远期发生贫血的危险因素[J]. 临床外科杂志, 2008, 16(8): 548.
- [4] Turkowski-Duhem A, Kamar N, Cointault O, et al. Predictive factors of postrenal transplant anemia[J]. Transplant Proc, 2005, 37(2): 1009.
- [5] 王静. 雷帕霉素在肾移植中的临床应用[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2005, 14(4): 387.

[收稿日期] 2009-06-25

[修回日期] 2009-10-26