

# 拮抗基底外侧杏仁核 D1 受体对奖赏记忆巩固的影响

王冬梅 李杰 李勇辉 郑希耕 杨晓燕 隋南

**【摘要】** 目的 实验选用条件性位置偏爱(CPP)作为记忆模型,考察基底外侧杏仁核的多巴胺受体在吗啡诱导的奖赏记忆巩固中的作用。方法 雄性 SD 大鼠皮下注射  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的吗啡后,和环境线索匹配 3 次建立 CPP 模型,在每次吗啡训练后,向基底外侧杏仁核立即注射 D1 受体拮抗剂 SCH23390 ( $0 \mu\text{g}$ 、 $0.2 \mu\text{g}$ 、 $2 \mu\text{g}$ ) ,或者训练后 2h 注射 SCH23390 ( $2 \mu\text{g}$ ) 。结果 训练后立即注射 SCH23390 会干扰吗啡 CPP 记忆的巩固 [ $(143 \pm 29) \text{ s}$  :  $(37 \pm 27) \text{ s}$ ,  $P < 0.05$ ] ,训练后延迟 2h 注射则不影响吗啡相关记忆的巩固 [ $(37 \pm 27) \text{ s}$  :  $(137 \pm 22) \text{ s}$ ,  $P < 0.05$ ] ,且 SCH23390 本身不产生条件性位置偏爱或厌恶效应 ( $F_{(2,36)} = 0.37$ ,  $P > 0.05$ ) 。结论 基底外侧杏仁核参与吗啡诱导的条件性趋近行为,多巴胺 D1 受体在记忆巩固中有重要作用。

**【关键词】** 记忆巩固; 条件性位置偏爱; 吗啡; 基底外侧杏仁核; D1 受体

**The influence of dopamine D1 receptor in basolateral amygdala on the consolidation of morphine-induced reward memory** WANG Dong-mei, LI Jie, LI Young-hui, et al. Key Laboratory of Mental Health, Institute of Psychology, Chinese Academy of Sciences; Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

**【Abstract】 Objective** To investigate the influence of dopamine receptor in the basolateral amygdala on the consolidation of morphine-induced reward memory with the conditioned place preference (CPP) being used as a memory model. **Methods** Adult male Sprague-Dawley rats were injected with  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  morphine or saline and confined to treatment- or non-treatment-paired compartments for 45 minutes for three days. After every morphine training, rats immediately received intrabasolateral amygdala infusions of D1 antagonist SCH23390 ( $0 \mu\text{g}$ ,  $0.2 \mu\text{g}$  or  $2 \mu\text{g}$ ) or as compared, SCH23390 was injected 2 hours after conditioned training. **Results** Immediate post-training injection (but not delayed 2 hours) of SCH23390 ( $2 \mu\text{g}$ ) blocked acquisition of morphine-induced consolidation of memory for CPP [ $(143 \pm 29) \text{ s}$  vs  $(37 \pm 27) \text{ s}$ ,  $P < 0.05$ ]; while the 2-hour-delayed injection of SCH23390 did not [ $(37 \pm 27) \text{ s}$  vs  $(137 \pm 22) \text{ s}$ ,  $P < 0.05$ ]. Furthermore, SCH23390 did not induce CPP or conditioned place aversion ( $F_{(2,36)} = 0.37$ ,  $P > 0.05$ ). **Conclusion** BLA is involved in morphine-induced approaching behavior and dopamine D1 receptor plays an important role in the consolidation of memory.

**【Key words】** Memory consolidation; CPP; Morphine; BLA; D1 receptor

药物成瘾的核心问题在于强迫性用药状态和持续性渴求,与药物相关的记忆是导致复吸的重要原因<sup>[1]</sup>。基底外侧杏仁核(BLA)是参与记忆巩固的重要脑区<sup>[2-5]</sup>,BLA 的多巴胺(DA)传入对 BLA 到伏隔核的投射神经元的兴奋性起到门控作用<sup>[6]</sup>,提示 DA 受体可能参与 BLA 的记忆巩固作用。以往研究显示拮抗杏仁核的 DA 受体抑制成瘾药物相关记忆的形成和提取<sup>[7]</sup>。由于这类研究通常采用在 CPP 训练前或者 CPP 测试前注射拮抗剂的方式,这就很难区分拮抗剂的作用是影响了成瘾药物的奖赏效应还是影响了个体的学习记忆能力。本研究以吗啡诱导的 CPP 为记忆模型,每次吗啡匹配训练后在 BLA 注射 D1 受体拮抗剂 SCH23390,考察 BLA 的 D1 受体在吗啡奖赏记忆巩固中的作用。

## 材料与方法

### 一、材料

1. 动物:雄性 SD 大鼠 80 只,动物初始体质量 ( $270 \pm 20$ ) g,单独饲养,自由饮水、摄食,室温  $20 \sim 22^\circ\text{C}$ ,相对湿度 40% 左右。动物按随机原则分为 8 组,平均每组 10 只:一半动物的奖赏物为吗啡;另一半动物的奖赏物为盐水。每半动物再分成 4 组,每组对应的实验处理分别为条件化训练后立刻注射 Vehicle 或者立刻注射  $0.2 \mu\text{g}$  的 SCH23390 或者立刻注射  $2 \mu\text{g}$  的 SCH23390 或者条件化训练结束后 2h 注射  $2 \mu\text{g}$  的 SCH23390,依次简称为吗啡对照组、吗啡即刻给药组 ( $0.2 \mu\text{g}$ )、吗啡即刻给药组 ( $2 \mu\text{g}$ )、吗啡延迟给药组、盐水对照组、盐水即刻给药组 ( $0.2 \mu\text{g}$ )、盐水即刻给药组 ( $2 \mu\text{g}$ )、盐水延迟给药组。

2. 实验装置:长方形黑色有机玻璃箱用不透明隔板分成 2 个大小相等的箱体 ( $40 \text{ cm} \times 40 \text{ cm} \times 50 \text{ cm}$ , 单个)。一侧箱体的侧壁带有红色竖直条纹,底面光滑;另一个箱体侧壁无条纹,底面粗糙有栅格条纹。摄像头以相应跟踪记录系统自动记录动物的运动轨迹以及

基金项目:中科院知识创新基金资助项目(KSCX1-YW-R-68);973 计划资助项目(2003CB515400)

作者单位:100101 北京,中科院心理研究所心理健康实验室,中科院研究生院

在每个箱体的停留时间。

3. 药品及核团给药程序:盐酸吗啡(青海制药厂,批号:20020201),生理盐水溶解,皮下给药,剂量  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。D1 受体拮抗剂 SCH23390 (Sigma 公司),生理盐水溶解,通过微量进样器在 BLA 核团定位给药。每侧核团注射  $0.5 \mu\text{l}$ ,时间 1 min,给药完毕后,给药针在套管中停留 1 min 以便药物充分扩散后再拔出。

二、方法

1. 脑立体定位插管手术:所有动物行为训练前先进行脑立体定位插管手术,术前禁食禁水 12h。腹腔注射 10% 的水合氯醛( $4 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ )麻醉大鼠后,通过脑立体定位仪(Narishige SN-2 型,Japan)在颅骨两侧植入外径为 0.6 mm,长度( $11 \pm 0.2$ ) mm 的不锈钢套管。BLA 的坐标为前囟后 2.8 mm,中缝外侧 5.0 mm,颅骨表面向下 7.0 mm。以螺钉和牙科水泥固定套管后,插入不锈钢内芯防止套管堵塞和灰尘落入。术后给予 5 万单位的青霉素钠,动物恢复 1 周后进行 CPP 行为程序。

2. CPP 程序:CPP 程序分为适应、前测、训练、后测四个阶段。适应阶段(第 1 天)抽出箱中隔板,大鼠在箱中自由活动 15 min。前测阶段(第 2,3 天)程序同第 1 天,记录大鼠在两侧箱体的停留时间,以两天的平均值作为大鼠对箱子环境的自然偏爱值,结果表明动物在两个箱体内的停留时间差异无显著性 [ $(435 \pm 12) \text{ s}$ ,  $(465 \pm 12) \text{ s}$ ]。训练阶段(第 4~6 天)插上箱中隔板,以吗啡为奖赏物的动物皮下注射吗啡( $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )后,放在一侧箱内 45 min 后拿出,根据动物所属组别进行相应的脑内药物干预。间隔 6 h 后,动物皮下注射等量生理盐水,放在另一侧箱内 45 min 后拿出不做干预。盐水为奖赏物的动物除了放置在两侧箱前都注射生理盐水( $1 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ )外,每组对应的脑内操作与以吗啡为奖赏物的动物相同。条件化训练采用平衡设计方案,平衡吗啡的给药时间和吗啡匹配侧的环境。第 5,6 天的实验程序同第 4 天。CPP 后测阶段(第 7 天),抽出中间隔板,大鼠在箱子中自由活动 15 min,记录大鼠在每侧箱体的停留时间。吗啡诱导的 CPP 以偏爱分数表示,其定义为动物在吗啡匹配侧箱后测的停留时间减去前测的停留时间。

3. 组织学检验:行为实验完成后,用 10% 的水合氯醛( $4 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ )麻醉动物后,在 BLA 注射 2% 的溴按天兰染料  $0.5 \mu\text{l}$ ,20 min 后断头取脑。组织放入 4% 的多聚甲醛固定 24 h,再经蔗糖溶液梯度沉降后,制成  $30 \mu\text{m}$  的冰冻切片,对照 Paxinos 和 Watson 图谱(第 3 版)与染料位置在显微镜下鉴定脑内给药位点,剔除位点不准的数据。

4. 数据统计:采用 SPSS 10.0 软件包进行统计,数据以偏爱分数的均值  $\pm$  标准误表示。采用两因素方差分析或者单因素方差分析继以 post hoc 的 Bonferroni 检验分析数据,剔除位点不准的数据后,有效数据为以

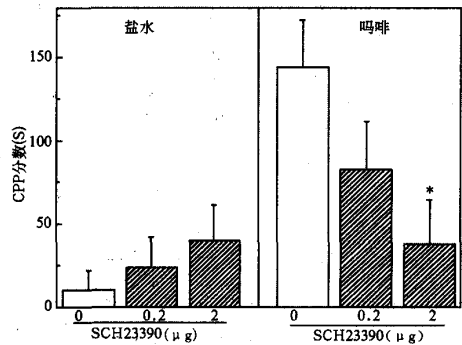
万方数据

吗啡为奖赏物的动物 28 只,以盐水为奖赏物的动物 28 只,每种处理下平均动物数 6~8 只。

结果

一、不同剂量的 SCH23390 对吗啡 CPP 记忆巩固的影响

两因素方差分析表明“奖赏类型”和“拮抗剂剂量”之间交互作用显著 ( $F_{(2,35)} = 3.999, P < 0.05$ ),说明 SCH23390 对于盐水自然偏爱和吗啡 CPP 的影响差异有显著性。分析“奖赏类型”的简单效应发现,在没有 SCH23390 的干预作用下,吗啡对照组动物的偏爱分数显著大于盐水对照组 ( $F_{(1,37)} = 12.71, P < 0.01$ ),表明  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的吗啡作用下动物形成了显著的 CPP 效应。“拮抗剂剂量”的简单效应分析结果表明,经吗啡处理的动物,不同剂量的 SCH23390 的作用差异有显著性 ( $F_{(2,36)} = 4.76, P < 0.05$ ); post-hoc 分析显示,  $2 \mu\text{g}$  的 SCH23390 作用下, CPP 偏爱分数明显低于对照组 ( $P < 0.05$ );  $0.2 \mu\text{g}$  的 SCH23390 作用下, CPP 偏爱分数有一定的降低趋势,但差异无显著性。经盐水处理的动物, SCH23390 的作用差异无显著性 ( $F_{(2,36)} = 0.37, P > 0.05$ )。见图 1。



注:与吗啡对照组比较, \*  $P < 0.05$

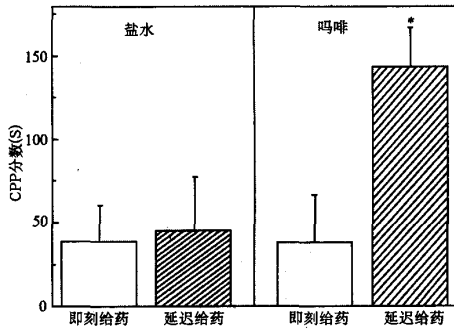
图 1 拮抗 BLA 的 D1 受体对吗啡记忆巩固的影响

二、不同给药时间对吗啡 CPP 记忆巩固的影响

两因素方差分析( $2 \times 2$ )结果显示,“奖赏类型”和“给药时间”的交互作用接近显著 ( $F_{(1,23)} = 3.989, P = 0.058$ )。简单效应分析显示,同样注射  $2 \mu\text{g}$  的 SCH23390,吗啡延迟给药组的 CPP 偏爱分数显著高于吗啡即刻给药组 ( $F_{(1,24)} = 7.38, P < 0.05$ )。经盐水处理的动物延迟给药组和即刻给药组的 CPP 偏爱分数差异无显著性 ( $F_{(1,24)} = 0.05, P > 0.05$ )。

讨论

CPP 模型被广泛用于研究药物成瘾的神经环路和分子机制,以往多数研究用该模型考察成瘾药物的奖赏效应<sup>[8]</sup>,近来该模型逐渐被用于研究成瘾行为中记忆过程的神经基础<sup>[5]</sup>。本研究以此作为记忆的行为模型,首次观察了基底外侧杏仁核的多巴胺受体在吗



注:与吗啡即刻给药组比较, \* $P < 0.05$

图 2 不同给药时间对吗啡 CPP 记忆巩固的影响

啡 CPP 记忆巩固中的作用。发现皮下注射  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的吗啡, 经过 3 次和环境匹配后大鼠会形成稳定的 CPP 效应, 在每次吗啡条件化匹配后在 BLA 立刻注射选择性 D1 受体拮抗剂 SCH23390 ( $2 \mu\text{g}$ ) 干扰了啡诱导的 CPP 记忆的巩固, SCH23390 本身不产生位置偏爱或厌恶效应, 并且 SCH23390 对记忆巩固的影响具有时间效应, 每次训练后 2 h 注射 SCH23390 不干扰记忆巩固过程。本研究进一步拓展了以往暂时性失活 BLA 阻断安非他命 CPP 记忆巩固的研究结果, 进一步指出 BLA 的 D1 受体在啡 CPP 记忆巩固中的作用, 支持 BLA 参与成瘾记忆巩固的结论。

Gallagher 首次在杏仁核注射  $\beta$ -肾上腺受体拮抗剂观察 BLA 对抑制性回避任务 (IA) 记忆巩固的影响, 此后有大量实验证明了 BLA 参与记忆巩固过程<sup>[5,9]</sup>。BLA 分布了多种受体, Lalumiere 等<sup>[10]</sup> 的研究报告了 BLA 的 DA 受体在 IA 任务中参与记忆巩固。DA 作为参与奖赏的重要神经递质, 更多的研究采用训练前给药的方式考察 DA 在食物 CPP 和各种成瘾药物诱导的 CPP 中的作用, 结果表明 CPP 行为的获得和表达依赖于 DA 受体。由于 CPP 模型既包括奖赏又包括记忆过程<sup>[11]</sup>, 训练前干预 DA 对于 CPP 行为的影响可能包括感觉、运动或者注意过程, 也可能影响奖赏效应或者学习过程, 而并非是记忆因素受到影响。训练后注射干预药物主要影响了记忆巩固过程, 对奖赏或者学习过程影响较小。

本研究发现 SCH23390 对记忆巩固的影响有剂量依赖效应: 小剂量 SCH23390 削弱了 CPP 记忆的巩固, 大剂量 SCH23390 完全阻断 CPP 记忆巩固。训练后注射 SCH23390 抑制啡 CPP 表达除了影响药物与环境匹配时的记忆巩固过程外, 啡 CPP 未出现也可能是由于 SCH23390 的非特异性作用, 比如 SCH23390 可能影响了大鼠关联药物和环境的学习能力, 或者 SCH23390 降低了啡的奖赏效应。本研究中包括即刻给药组和延迟给药组, 同样在 BLA 注射了  $2 \mu\text{g}$  SCH23390, 只有延迟给药组表现出了显著的 CPP 效

应, 从而排除了 SCH23390 的非特异性效应, 说明条件化匹配训练后注射 SCH23390 既没有影响动物的学习能力也没有影响啡的奖赏效应, 并且已有实验显示损毁杏仁核并没有削弱可卡因自身给药的奖赏效应。由此推测啡 CPP 被抑制并非由于 SCH23390 的非特异性效应, 最可能的原因在于 SCH23390 干扰了情绪记忆的巩固过程。

BLA 注射 DA 受体拮抗剂影响成瘾相关记忆巩固的神经机制可能有两点。激活 D1 受体增强 BLA 神经元的活动性<sup>[6,12]</sup>, 给予 D1 受体拮抗剂可能降低了 BLA 神经元的活动性, 从而环境线索和奖赏之间的记忆痕迹在 BLA 的巩固作用受到影响。相似的研究结果显示, 在记忆提取前失活 BLA, 阻断安非他命 CPP 的表达<sup>[5]</sup>。D1 受体拮抗剂弱化记忆巩固的另一种可能是 D1 受体拮抗剂减弱 BLA 神经元的活性, 影响了 BLA 到其他试验脑区的神经投射, 影响记忆巩固过程<sup>[13]</sup>。

#### 参 考 文 献

- 1 刘彩霞, 王冬梅, 李勇辉, 等. 条件性线索诱发复吸的心理神经机制. 中国行为医学科学, 2004, 13: 704-705.
- 2 Wilensky AE, Schafe GE, LeDoux JE. The amygdala modulates memory consolidation of fear-motivated inhibitory avoidance learning but not classical fear conditioning. J Neurosci, 2000, 20: 7059-7066.
- 3 Vazdarjanova A, McLaughlin JL. Basolateral amygdala is involved in modulating consolidation of memory for classical fear conditioning. J Neurosci, 1999, 19: 6615-6622.
- 4 Schroeder JP, Packard MG. Differential effects of intra-amygdala lidocaine infusion on memory consolidation and expression of a food conditioned place preference. Psychobiology, 2000, 28: 486-491.
- 5 Hsu EH, Schroeder JP, Packard MG. The amygdala mediates memory consolidation for an amphetamine conditioned place preference. Behavioural Brain Research, 2002, 129: 93-100.
- 6 Floresco SB, Blaha CD, Yang CR, et al. Dopamine D-1 and NMDA receptors mediate potentiation of basolateral amygdala-evoked firing of nucleus accumbens neurons. Journal of Neuroscience, 2001, 21: 6370-6376.
- 7 Zarrindast MR, Rezayof A, Sahraei H, et al. Involvement of dopamine D1 receptors of the central amygdala on the acquisition and expression of morphine-induced place preference in rat. Brain Research, 2003, 965: 212-221.
- 8 Bardo MT, Bevins RA. Conditioned place preference: what does it add to our preclinical understanding of drug reward? Psychopharmacology, 2000, 153: 31-43.
- 9 Pare D. Role of the basolateral amygdala in memory consolidation. Progress in Neurobiology, 2003, 70: 409-420.
- 10 Lalumiere, RT, Nguyen LT, McLaughlin JL. Post-training intrabasolateral amygdala infusions of dopamine modulate consolidation of inhibitory avoidance memory: involvement of noradrenergic and cholinergic systems. European Journal of Neuroscience, 2004, 20: 2804-2810.
- 11 White NM, Carr GD. The conditioned place preference is affected by 2 independent reinforcement processes. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 1985, 23: 37-42.
- 12 Kroner S, Rosenkranz JA, Grace AA, et al. Dopamine modulates excitability of basolateral amygdala neurons in vitro. Journal of Neurophysiology, 2005, 93: 1598-1610.
- 13 McLaughlin JL, McIntyre CK, Power AE. Amygdala modulation of memory consolidation: Interaction with other brain systems. Neurobiology of Learning and Memory, 2002, 78: 539-552.

(收稿日期: 2007-10-08)

(本文编辑: 冯学泉)

# 拮抗基底外侧杏仁核D1受体对奖赏记忆巩固的影响

作者: [王冬梅](#), [李杰](#), [李勇辉](#), [郑希耕](#), [杨晓燕](#), [隋南](#)  
作者单位: [100101 北京, 中科院心理研究所心理健康实验室, 中科院研究生院](#)  
刊名: [中国行为医学科学](#) **ISTIC** **PKU**  
英文刊名: [CHINESE JOURNAL OF BEHAVIORAL MEDICAL SCIENCE](#)  
年, 卷(期): 2008, 17 (2)

## 参考文献(13条)

1. 刘彩谊;王冬梅;李勇辉 [条件性线索诱发复吸的心理神经机制](#)[期刊论文]-[中国行为医学科学](#) 2004(6)
2. Wilensky AE;Schafe GE;LeDoux JE [The amygdala modulates memory consolidation of fear-motivated inhibitory avoidance learning but not classical fear conditioning](#) 2000
3. Vazdarjanova A;McGaugh JL [Basolateral amygdala is involved in modulating consolidation of memory for classical fear conditioning](#) 1999
4. Schroeder JP;Packard MG [Differential effects of intra-amygdala lidocaine infusion on memory consolidation and expression of a food conditioned place preference](#) 2000
5. Hsu EH;Schroeder JP;Packard MG [The amygdala mediates memory consolidation for an amphetamine conditioned place preference](#)[外文期刊] 2002(1/2)
6. Floresco SB;Blaha CD;Yang CR [Dopamine D-1 and NMDA receptors mediate potentiation of basolateral amygdala-evoked firing of nucleus accumbens neurons](#)[外文期刊] 2001
7. Zarrindast MR;Rezayof A;Sahraei H [Involvement of dopamine D1 receptors of the central amygdala on the acquisition and expression of morphine-induced place preference in rat](#)[外文期刊] 2003(1/2)
8. Bardo MT;Bevins RA [Conditioned place preference:what does it add to our preclinical understanding of drug reward?](#)[外文期刊] 2000
9. Pare D [Role of the basolateral amygdala in memory consolidation](#)[外文期刊] 2003(5)
10. LaLumiere RT;Nguyen LT;McGaugh JL [Post-training intrabasolateral amygdala infusions of dopamine modulate consolidation of inhibitory avoidance memory:involvement of noradrenergic and cholinergic systems](#)[外文期刊] 2004(10)
11. White NM;Carr GD [The conditioned place preference is affected by 2 independent reinforcement processes](#) 1985
12. Kroner S;Rosenkranz JA;Grace AA [Dopamine modulates excitability of basolateral amygdala neurons in vitro](#)[外文期刊] 2005
13. McGaugh JL;McIntyre CK;Power AE [Amygdala modulation of memory consolidation:Interaction with other brain systems](#)[外文期刊] 2002

本文链接: [http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zgxwyxkx200802006.aspx](http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zgxwyxkx200802006.aspx)