

# 对体液免疫反应的条件反射性调节\*

郑丽 林文娟\*\* 邵枫 王玮雯

(中国科学院心理研究所脑—行为研究中心,北京,100101)

**摘要** 以饮糖水作为条件刺激(conditioned stimulus,CS),腹腔注射免疫抑制剂环磷酰胺作为非条件刺激(unconditioned stimulus,UCS)训练 Wistar 大鼠,3天后腹腔注射卵清蛋白(ovalbumin,OVA)抗原,观察再次单独条件刺激对原发性体液免疫反应的作用。结果发现,一次 CU - UCS 结合训练导致 CS 组大鼠对再现糖水产生厌恶反应,外周血中抗 OVA-IgG 抗体水平显著低于 UCS 组。两次 CS - UCS 结合训练并多次给予条件刺激后,CS 组大鼠抗 OVA - IgG 的条件性免疫抑制效应与一次 CS - UCS 结合训练及再次给予一次条件刺激的反应类同。这些结果证明条件刺激增强了环磷酰胺对动物原发性体液免疫反应的抑制作用,这种条件性体液免疫抑制作用是相对稳定和有限度的,不易受条件反射建立参数的影响。

**关键词:** 条件反射性免疫抑制 环磷酰胺 糖水 原发性体液免疫反应 大鼠

## 1 引言

近年来,中枢神经系统与免疫系统各自独立调节的传统观念受到了挑战。大量证据提示,免疫功能受心理行为活动的调节,其中条件反射性免疫调节的研究是一个重要方向<sup>[1,2]</sup>。尤以 Ader & Cohen 利用味觉厌恶模式进行的条件反射性免疫抑制实验最为著名:即给水剥夺的动物饮用具有新异味觉刺激的糖水(saccharin,SAC)之后,立即腹腔注射免疫抑制剂环磷酰胺(cyclophosphamide,CY);再次给予 SAC 导致动物产生味觉厌恶反应和对绵羊红细胞(SRBC)血清抗体反应的条件性抑制<sup>[3]</sup>。随后研究者们用类似的条件反射模式诱导出对移植物抗宿主反应<sup>[4]</sup>,NK 细胞杀伤活动<sup>[5]</sup>,和自身免疫病<sup>[6]</sup>等的条件反射性免疫抑制作用,这种模式还被用于条件反射性免疫增强<sup>[7]</sup>。上述行为免疫调节现象成为中枢神经系统参与调节免疫活动的有力证据。但迄今为止,行为调节免疫的机制仍不清楚。难点之一是条件反射性免疫反应较弱,且不稳定。要探讨行为如何调节免疫活动的,一个稳定的行为免疫调节的动物模型非常重要。

免疫功能主要包括细胞免疫和体液免疫两种功能。我们曾利用条件反射原理,在 Wistar 大鼠上已经观察到条件刺激对血白细胞、淋巴细胞和脾淋巴细胞转化反应的免疫抑制作用<sup>[8]</sup>,证实细胞免疫功能能建立条件性的免疫抑制反应。为了更全面地了解条件反射对免疫功能的调节作用,本实验将观察

不同条件反射训练过程对特异性体液免疫反应的作用。

## 2 材料和方法

### 2.1 动物

56 只雄性 Wistar 大鼠,体重 200 - 250 克,鼠龄 60 天左右,购于北京医科大学实验动物中心。进实验室后每只大鼠单笼饲养,控制室温(20 ± 2)和昼夜节律(7:00 - 19:00 照明)。最初 4 天自由进食和饮水,并每日被抚摸 2 - 3 分钟以适应实验人员的操作。随后 6 天为定时饮水期,在此期间每天在同一时间给动物两瓶水,饮用 30 分钟后撤走水瓶。

### 2.2 药物和仪器

免疫抑制剂:环磷酰胺,注射前用生理盐水溶解至浓度 20mg/ml;抗原:卵清蛋白(Grade Ovalbumin,OVA,Sigma 公司产品),溶于磷酸缓冲液(PBS,pH=7.4),用等量的弗氏完全佐剂(Gibco 公司产品)乳化浓度为 200μg/ml 的注射用抗原:羊抗—鼠 IgG 抗体(美国 BIO - RAD 公司产品);牛血清白蛋白(BSA,北京中山生物技术有限公司);Tween20(北京中预卫科生物工程提供)。酶标仪(美国 BIO - RAD 公司)。

### 2.3 ELISA 法测定血清中抗—OVA IgG 水平

(1)用浓度为 1mg/ml 的 OVA 包被 96 孔板,在 4℃ 下过夜。用 PBS(含 0.05% 的 Tween20)洗板 2 次,再用双蒸水洗 1 次。(2)将板甩干后,用 1% 的 BSA(含 0.005μl Tween20/ml)在室温下封闭 1 小时

\* 本研究受中科院创新项目(KSCX2-2-03)和国家自然科学基金项目(39830130)的资助。

\*\* 通讯作者:林文娟,中国科学院心理研究所,北京,1000101。

(100 $\mu$ l/孔)。洗板(同上)。(3)将 1:100 稀释的待测血清加入 96 孔板中(100 $\mu$ l/孔),室温下放置 1 小时。洗板(同上)。(4)用过氧化物酶标记的羊抗-鼠 IgG(稀释度 1:5000)在室温下包被 1 小时(50 $\mu$ l/孔)。洗板(同上)。(5)用自配的过氧化物酶底物加入 96 孔板(100 $\mu$ l/孔),室温下放置 5 分钟,直到颜色充分显现。用 2N 硫酸中止反应(50 $\mu$ l/孔)。在酶标仪上读吸光度(OD 值)。过氧化物酶底物的配方为:A = 0.1M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; B = 0.04% 邻苯二胺(O-phenylenediamine)溶于 0.1M 柠檬酸。A 和 B 以 2:1 的比例混合后,加入 0.03% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 混和均匀即为工作液。

#### 2.4 数据处理

两组间数据比较:t-检验,P < 0.05 为有显著性差异;多组(>2)间数据比较:ANOVA 分析后进行 post hoc Newman-Keuls 检验,P < 0.05 为有显著性差异。

### 3 实验一

Ader & Cohen 用一次 CS - UCS 结合训练就诱导出对抗 SRBC 血清抗体反应的条件性抑制,而我们以往在 Wistar 大鼠上必须进行两次 CS-UCS 结合训练才能观察到对血白细胞、淋巴细胞和脾淋巴细胞转化反应的条件反射性抑制现象。这些研究提示体液免疫应答对条件反射性调控可能更为敏感,为此本实验首先观察了一次 CS - UCS 结合训练对 Wistar 大鼠体液免疫反应的影响。

#### 3.1 实验程序

实验程序见表 1。在条件反射训练日(第 0 天),动物被随机分成 2 组,条件反射组(CS, n = 19)和非条件刺激对照组(UCS, n = 16)。给条件反射动物饮用一瓶糖精水和一瓶清水,UCS 组动物饮用两瓶清水,30 分钟后撤走水瓶,立即 i. p. 注射 CY (50mg/kg)。之后每天在相应时刻给动物饮清水 30 分钟。3 天后,给每只动物 i. p. 注射 OVA 抗原(80 $\mu$ g/0.4ml)。24 小时后(第 5 天)单纯给动物条件刺激,即分别给予 CS 和 UCS 组大鼠糖精水和清水,饮用 30 分钟后腹腔注射与 CY 等容量的生理盐水。记录第 0 天(反射训练日)和第 5 天(条件刺激日)动物对糖精水和清水的饮用量。之后 10 天内动物自由饮水和进食,训练后第 15 天,所有动物均断头取血,制备血清,用酶联免疫吸附法(ELISA)检测抗 OVA IgG 的水平。

#### 3.2 结果

##### 3.2.1 味觉厌恶条件反射(CTA)

训练后第 5 天再次给予条件刺激时,CS 条件反射组组动物饮 SAC 的量显著低于训练日(P < 0.01),其糖精水饮用量只是训练日的 40%(图 1),表现出明显的味觉厌恶反应。CS 和 UCS 两组动物动物在饮水总量上未发现差异。

##### 3.2.2 抗 OVA IgG 抗体生成量

条件刺激后第 10 天,CS 组动物血清中抗-OVA IgG 水平显著低于 UCS 组(P < 0.05),其 OD 平均值比 UCS 组降低了 42%(图 2)。

表 1 实验一程序

组别	条件反射训练日 第 0 天	注射 OVA 第 4 天	条件刺激日 第 5 天	取样 第 15 天
CS(n = 19)	SAC + CY	饮水后 2hr	SAC + SAL	断头取血,制备血清
UCS(n = 16)	WAT + CY		WAT + SAL	断头取血,制备血清

注:CS 条件反射组 UCS 非条件刺激对照组 CY 环磷酰胺 SAC 糖精水 OVA 卵清蛋白 SAL 生理盐水 WAT 水

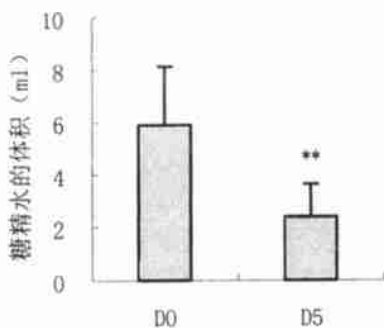


图 1 一次 CS - UCS 训练的动物 SAC 饮用量(M  $\pm$ SD)

注: \* 与 D0 组比 P < 0.01, D0 条件反射训练日, D5 条件反射训练后第 5 天

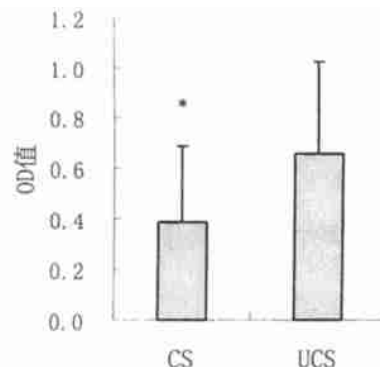


图 2 一次 CS - UCS 结合训练对血清抗 OVA 抗体水平(M  $\pm$ SD)的影响

注: \* 与 UCS 组比 P < 0.05

## 4 实验二

实验一中表明 CS 组动物的抗 - OVA IgG 抗体水平显著低于 UCS 组,表明条件刺激诱发了类同 CY 的免疫抑制效应。为进一步验证条件反射性体液免疫抑制效应,实验二增设糖精水对照组(CS<sub>0</sub>)以控制糖精水的效应,并试图通过改变建立条件反射的参数观察其对条件性抑制效应的变化。

### 4.1 实验程序

实验程序(表 2)类同实验一。不同的是对动物进行连续两次 CS - UCS 结合训练,并在条件反射训练后第 6 天(D6),第 13 天(D13)和第 18 天(D18)分别给予一次条件刺激。记录每次条件刺激后糖精水和清水的饮用量。第 19 天取样,测定血清中抗 - OVA IgG 抗体水平。

表 2 实验二程序

组别	条件反射训练 1 第 0 天	条件反射训练 2 第 1 天	注射 OVA 第 5 天	条件刺激 1 第 6 天	条件刺激 2 第 13 天	条件刺激 3 第 18 天	取样 第 19 天
CS (n = 8)	SAC + CY	SCA + CY	饮水 2hr	SAC + SAL	SAC + SAL	SAC + SAL	断头取血 制备血清
UCS (n = 8)	WAT + CY	WAT + CY		WAT + SAL	WAT + SAL	WAT + SAL	同上
CS <sub>0</sub> (n = 7)	SAC + SAL	SAC + SAL		SAC + SAL	SAC + SAL	SAC + SAL	同上

注:CS 条件反射组 UCS 非条件刺激对照组 CS<sub>0</sub> 糖精水对照组

## 4.2 结果

### 4.2.1 味觉厌恶条件反射(CTA)

图 3 可看出,在第一个条件反射训练日,CS 组和 CS<sub>0</sub> 组动物饮用 SAC 的量基本相同。但第二次训练时条件反射组动物饮 SAC 的量显著低于糖精水 CS<sub>0</sub> 对照组(P < 0.01),也显著低于自身第一次训练日的 SAC 饮用量,这与实验一中一次 CS - US 训练即建立行为条件反射的结果一致。在训练后第 6、13 和 18 天给予 CS 时条件反射组动物均保持很低的 SAC 饮用量,始终显著低于糖精水对照组,这表明条件反射组动物建立了牢固的味觉厌恶性条件反射。三组动物在任何测试日其饮水总量均无差异。

### 4.2.2 抗 OVA IgG 抗体生成量

三组动物血清抗 OVA IgG 量见图 4。在条件反射训练后第 19 天,条件反射组动物血清抗 - OVA IgG 水平显著低于 UCS 组(P < 0.05)。其 OD 平均值比 UCS 组降低了 44%,表明条件性免疫抑制效应并未因改变建立条件反射的参数而变化,也即条件性体液免疫抑制效应既未消失,也未明显扩大。CS 组和 UCS 组动物与 CS<sub>0</sub> 组比均表现出明显的条件性免疫抑制效应(P < 0.01)。

## 5 讨论

实验一的结果表明,以饮糖精水作为 CS,腹腔注射免疫抑制剂环磷酰胺为 UCS,经过一次 CS -

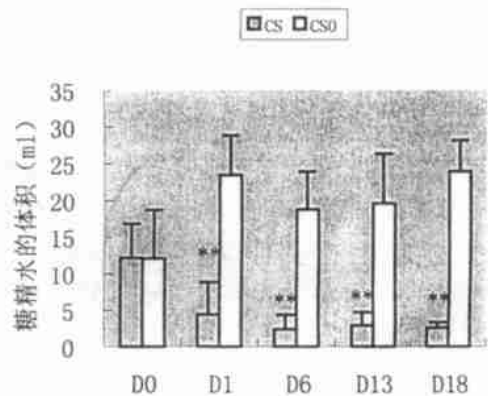


图 3 两次 CS - UCS 结合训练及多次给予 CS 的动物 SAC 饮用量(M ±SD)

注: \* \* 与 CS<sub>0</sub> 组比 P < 0.01

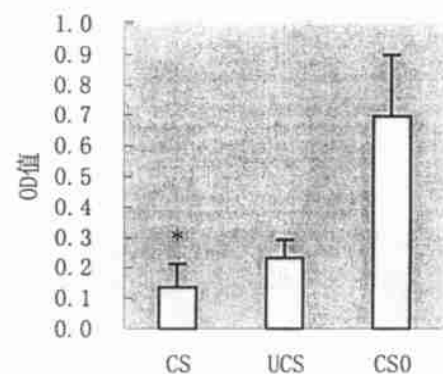


图 4 两次 CS - UCS 结合训练及多次给予 CS 对血抗 OVA IgG 水平(M ±SD) 的影响

注: \* 与 UCS 组比 P < 0.05

UCS 结合训练,条件刺激可导致 CS 组动物抗 OVA

- IgG 抗体生成产生条件性免疫抑制,并伴随着味觉厌恶反应。而我们以往在条件性细胞免疫反应的研究中发现一次 CS - UCS 结合训练仅仅使动物建立了味觉厌恶条件反射,并未观察到对脾淋巴细胞转化反应的条件性抑制作用<sup>[8]</sup>。CY 对快速分裂期的细胞影响更大,在抗原注射的同时或稍后注射导致的免疫抑制效应最强。由于 CS 可诱导出与 CY 类似的作用,因而在抗原致敏后进行条件刺激可能更利于条件性的免疫抑制反应的发生。

由实验二的结果可以看出,两次 CS-UCS 结合训练,以及训练后多次条件刺激,并未使 CS 组大鼠产生更强的味觉厌恶性条件反射,其抗 OVA - IgG 抗体水平也仍然表现出与实验一同等程度的条件性免疫抑制效应。表明条件性免疫抑制效应并未因改变建立条件反射的参数而发生明显变化。至于实验二中 CS 和 UCS 组动物的抗 OVA - IgG 抗体水平明显低于 CS<sub>0</sub> 对照组,且其免役功能参数均低于实验一中相应处理的动物,这反应了 CY 的非条件性的免疫抑制效应,而两次注射 CY 产生更强的纯药理性免疫抑制作用。

近来,Exton 等人报道条件反射性白细胞减少可在多种情况下诱导出。无论是采用整个条件反射性程序还是仅仅重复呈现糖精水刺激都能产生条件反射性白细胞减少<sup>[9]</sup>。但我们以往的研究发现一次 CS - UCS 结合训练和一次单独 CS 刺激并不能产生明显的条件反射性白细胞或淋巴细胞的减少<sup>[8,10]</sup>。而本研究观察到不论是一次 CS - UCS 结合训练和一次单独 CS 刺激,还是两次强化训练和多次条件刺激都导致条件性的抗 OVA - IgG 抗体水平的降低。证明条件性体液免疫抑制是相对稳定的现象。研究该模式的内在机制有助于了解神经系统和免疫系统的互相作用。

## 6 参考文献

- 1 Ader R. On the development of psychoneuroimmunology. *European Journal of Pharmacology*, 2000; 405: 167-176
- 2 Von Horsten S, Exton MS, Schult M, et al. . Behaviorally conditioned effects of cyclosporine A on the immune system of rats: specific alterations of blood leukocyte numbers and decrease of granulocytes function. *J Neuroimmunology*, 1998; 85: 193-201
- 3 Ader R, Cohen N. Behaviorally conditioned immunosuppression. *Psychosomatic Medicine*, 1975; 37: 333-340
- 4 Grochowicz P M, Schedlowski M, Husband A J, et al. Behavioral conditioning prolongs heart allograft survival in rats. *Brain Behavior, and Immunity*, 1991; 3: 349-356
- 5 Ghanta V K, Hiramoto N S, Solvason H B, et al. Conditioned enhancement of natural killer activity, but not interferon, with camphor or saccharin - LiCl conditioned stimulus. *J Neurosci. Res*, 1987; 18: 10 - 15
- 6 Lysle D T, Lucecken L J, Maslonek K A. Suppression of the development of adjuvant arthritis by a conditioned aversive stimulus. *Brain Behavior, and Immunity*, 1992; 6: 64-73
- 7 Ader R, Kelly K, Moynihan J A, et al. Conditioned enhancement of antibody production using antigen as the unconditioned stimulus. *Brain Behavior, and Immunity*, 1993; 7: 334-343
- 8 林文娟, 卫星, 郭友军等. 味觉厌恶性条件反射与条件反射性免疫抑制的研究. *心理学报*, 1998; 30(4): 418 - 422
- 9 Exton M S, Von Horsten S, Strubel T, et al. . Conditioned alterations of specific blood leukocyte subsets are reconditionable. *Neuroimmunomodulation*, 2000; 7: 106 - 114
- 10 Lin W, Robbins M, Wei X, Li. Dose response comparisons of cyclophosphamide in behavioral and immunological conditioning. *Acta Psychologica Sinica*, 1997; 29(suppl): 106-109

## 《心理学学习与考试一本全》

本书以历年来心理学考题的共同性知识为编选准则,以参加专升本及各级各类心理学考试的考生为读者对象,帮助考生抓重点、扣主题、清思路,提供最新考试内容提要和学习要点,正规考试范例与精练解析,具有自学容易和助考成功率高的特点。本书由华东师范大学心理学系梁宁建教授主编。每本定价 16 元。需要者请与华东师范大学出版社发行科联系。地址:上海市中山北路 3663 号,邮编:200062,电话:021—62869887; 021—62232883, 传真: 021—62860410, 银行帐号: 工商银行上海普支行金分处 1001247209014476553。

Key Words: internal justice judgement , internal justice , immanent justice.

### **A STUDY ON THE PLASTICITY IN THE VISUAL IMAGERY SCANNING PROCESS**

*You Yuqun*

(Department of Psychology , Shanxi Normal University)

*Yang Zhiliang*

(Department of Psychology , East China Normal University)

The study tried to examine the cognitive plasticity in the visual imagery scanning process. Two experiments were conducted to test the processing level of imagery scanning respectively in twenty pilots, ten elderly adults and their corresponding controls. The results indicated that neither the effect of practice nor the effect of age was found in the two experiments. The study suggested that influenced by some hereditary and intrinsic attributes of the cerebral nervous anatomic structure , the processing system of visual imagery scanning showed a relatively low cognitive plasticity and susceptibility. The implication was further discussed in terms of the high-level visual processing theory and practical significance.

Key Words: image-scanning , practice effect , age effect , plasticity.

### **A CORRELATION RESEARCH ON INTERVENTIONS IN MIDDLE SCHOOL STUDENTS' HATRED FOR SCHOOLING AND LEARNING EFFICIENCY**

*Fu Anqiu , Nie Jing , Li Yanping , Jin Beibei , Cui Junhong*

(Psychology and Behavior Research Center , Tianjin Normal University)

(Applied Psychology Department , Shanghai Normal University)

This research focuses on two questions. 1) Can counseling change middle school students' hatred for schooling? If it can, to what extent can it change? 2) Can the changes improve students' learning efficiency? Our experiment first used a questionnaire to choose 24 students who hated schooling from 183 students. Then we spent four months in changing the 24 students by using intervention techniques such as individual counseling and collective counseling. The result showed that counseling could effectively and obviously change the students' hatred for schooling , but other intervention techniques would be needed if the hatred was to be totally removed. With the changes , the students' learning efficiency was increased greatly.

Key Words: hatred for schooling , Learning efficiency , counseling.

### **A COMPARATIVE STUDY OF ELABORATIVE ACTIVITIES BETWEEN JAPANESE AND CHINESE UNDERGRADUATES**

*Toyoda Hirosh , Yonetani Mitsuhiro*

(Research Department of Psychology , Nala Education University in

Japan)

*Che Wenbo*

(Social and Psychology Department , Jiling University)

The present study was a cross-culture comparison of the three types of elaborative activities (elaboration by recall ,elaboration in daily life , and between-item and within-item elaboration) between Japanese and Chinese undergraduates. The main findings were as follows: Chinese undergraduates were engaged in the three types of elaborative activities more often than the Japanese. In terms of sex differences , the female Chinese undergraduates were more active than the males in elaborative activities while the Japanese didn't show any .

Key Words: elaborative activities , elaborative processing , comparative study.

### **CONDITIONED MODULATION OF THE PRIMARY HUMORAL IMMUNE RESPONSE**

*Zheng Li , Lin Wenjuan , Shao Feng , Wang Weiwēn*

(Brain-Behavior Research Center , Institute of Psychology , Chinese Academy of Sciences)

Male Wistar rats were conditioned by pairing saccharin ( conditioned stimulus , CS ) with 50mg/kg cyclophosphamide (unconditioned stimulus , UCS). The antigen ovalbumin (OVA) was i.p.injected three days later. The effect of CS on the primary humoral immune response was observed. The results showed that the conditioned rats after one trial of CS-UCS pairing and one re-exposure to CS exhibited conditioned taste aversion(CTA) and significant lower level of anti-OVA IgG in the peripheral serum than that of the UCS group. Two trials of CS-UCS pairing and three re-exposures to CS resulted in similar CTA , and the conditioned humoral suppression induced by the one trial of CS-UCS pairing and one re-exposure to CS. These results suggest that conditioning effect is stable and marginal , even when two trials and multiple CS are given.

Key Words: conditioned immunosuppression , cyclophosphamide , saccharin , rat primary humoral immune response.

### **A COMPARATIVE STUDY OF THE CREATIVE THINKING AND ACADEMIC ADAPTATIVITY OF ADHD AND NORMAL CHILDREN**

*Sang Biao , Yu Jia , et al.*

(Department of Psychology , East China Normal University)

According to DSM-IV , subjects of 3rd-year primary schoolers were divided into an ADHD group and a non-ADHD group. By comparing the two groups' performances in Creative Thinking Test , Academic Adaptation Test and the scores of creativity evaluated by teachers , we found that : 1) there was no significant difference between the groups' performances in Creative Thinking Test ; 2) ADHD students were inferior to normal students in academic attitude , academic environment (referring to peer relation and teacher-student relation) , inde-