

基础研究·论著

电击信号应激免疫调节作用的中枢机制研究

邵枫¹, 林文娟², 王玮雯²

(1. 北京大学心理学系, 北京 100871; 2. 中国科学院心理研究所脑-行为中心, 北京 100101)

摘要:目的 探讨可能参与电击信号应激免疫调节作用的中枢机制。方法 利用以电击装置为信号的情绪应激免疫调节作用动物模型, 观察情绪应激后 2 个小时, 大鼠全脑的 *c-fos* 原癌基因表达情况。结果 与对照组动物相比, 以电击装置为信号刺激的情绪应激组大鼠明显表达 *c-fos* 的脑区包括额皮质、扣带皮质、杏仁体、前连合核、下丘脑背内侧核弥散部、弓状核、孤束核等。结论 这些核团可能参与了电击信号应激的免疫调节作用的中枢机制。

关键词:电击信号; 情绪应激; 免疫调节; *c-fos* 原癌基因

The central mechanism of immunomodulation induced by footshock signal stress. SHAO Feng, LIN Wenjuan, WANG Weiwen. Department of Psychology, Peking University, Beijing 100871

Abstract: **Objective** To explore the central mechanism that maybe involved in the immunomodulation induced by footshock signal. **Method** Utilizing the animal model of immunomodulation of emotional stress induced by footshock apparatus as signal stimuli, observe the expression of *c-fos* gene in the rat brains after stress. **Results** compared to rats in control groups, *c-fos* gene expressed significantly at several brain areas in rats of emotional stressed group. The brain areas contain frontal cortex, cingulum cortex, amygdala, anterior commissure nucleus, arcuate nucleus, diffuse part of dorsomedial nucleus hypothalamus, solitary nucleus. **Conclusion** These brain areas maybe involved in the central mechanism of immunomodulation induced by the emotional stress.

Key words: Footshock signal; Emotional stress; Immunomodulation; *c-fos* gene

中图分类号: B845 文献标识码: A 文章编号: 1005-8559(2003)02-137-03

心理应激的免疫调节作用已被许多动物和人类研究所证实^[1-3]。那么它是如何影响免疫功能的? 目前认为, 心理应激源首先作用于中枢神经系统, 激活某些特异性脑区, 然后通过下丘脑和垂体, 主要引起下丘脑-垂体-肾上腺轴和交感神经系统兴奋, 最终通过糖皮质激素、儿茶酚胺类递质以及其他激素和肽类物质作用于免疫系统的免疫细胞, 引起免疫调节作用。其中明确心理应激激活的脑区结构对于了解中枢神经系统和免疫系统相互作用的中枢机制具有重要的意义, 因此成为近年来心理神经免疫学研究的重点问题。本研究利用已建立的以电击装置为信号的情绪应激免疫调节作用的动物模型^[4], 观察给予情绪应激后 2 个小时, 大鼠全脑 *c-fos* 的表达情况, 旨在初步探讨可能参与心理应激免疫调节作用的中枢机制。

材料和方法

一、实验动物

16 只雄性 Wistar 大鼠, 体重 250 ~ 300 克, 鼠龄 3 个月左右, 购于中国科学院遗传所动物中心。每只大鼠单笼喂养, 控制室温 (20 ± 3) 和照明 (12 小时照明/12 小时黑暗, 每天早 7 时开始照明)。实验期间所有动物自由饮食、水, 饲料由北京市实验动物中心提供。

二、实验程序

1. 动物模型建立: 所有动物经 1 周适应期后, 于第 8 天 (0 天) 进行免疫。抗原是用卵清蛋白 (grade V ovalbumin, OVA; Sigma 公司产品) 溶于磷酸缓冲液

(PBS) (pH = 7.3), 再用等量的弗氏完全佐剂 (Gibco 公司产品) 乳化而成, 浓度为 200 μg/ml, 每只大鼠腹腔注射 100 μg/0.5 ml OVA。免疫后第二天开始给予应激刺激。足底电击给予的频率和强度是: 1.0 mA, 持续时间 3 秒, 间隔时间 15 秒, 共 33 次, 总时间为 10 分钟 (刺激电流由 SMF-1 型动物实验仪供给并调节, 电击箱为有机玻璃制成, 长宽高分别为 30 × 30 × 30 cm)。所有动物分成 4 组, 4 只/组: 电击组 (S), 电击 + 情绪应激组 (ES), 装置对照组 (C) 和正常对照组 (N)。S 和 ES 组动物在免疫后第二、三天内分别被给予同样频率和强度的 10 分钟电击, 而 C 组动物则每天仅被置于电击装置中 10 分钟而无电击, N 组动物无任何特殊处置。免疫后第四天, ES 和 C 组动物分别被放置电击装置内 10 分钟而无电击, S 和 N 组动物无特殊处置。2 个小时后进行心脏灌流。

2. 心脏灌流: 麻醉动物, 腹腔注射 10% 水合氯醛, 3.5 ml/kg 体重; 立即左心室-主动脉插管; 0.9% 生理盐水 100 ml 快速冲洗后, 4% 多聚甲醛 (0.1 MPBS 配制) 400 ml 灌流约 90 分钟; 取脑, 30% 蔗糖溶液 (0.1 MPBS 配制) 4 保存; 大鼠脑通过冷冻连续冠状切片, 片厚 40 μm, 片距 120 μm (隔三留一), 收集于 0.01 M PBS 中。

3. *c-fos* 免疫组化方法: 洗切片 PBS 0.01 M; 0.3% H₂O₂/甲醇, 孵育 30 min; 以 PBS 洗 5 min × 3; 0.3% Triton-X-100/PBS 孵育 20 min; 正常山羊血清 (5% ~ 10% PBS 稀释) 封闭, 室温 10 min; 去血清, 加入适当稀释的一抗, 4 孵育 48 h (一抗稀释液: 0.1% NaN₃ 以 PBS 配制); PBS 洗 5 min × 3; 滴加生物素二抗 (PBS 稀释), 孵育 1 h; PBS 洗 5 min × 3; SP-HRP 孵育 1 h; PBS 洗 5 min

基金项目: 中国科学院创新项目 (KSCX2-2-03); 教育部科学技术重点项目 (02170)

×3;显色剂显色(DAB) 10min 左右;PBS 冲洗终止反应;用稀释的络钒明胶裱片;以二甲苯透明,再用树脂封片,观察结果。

三、结果判定

以每个单位视野(200 μ m)内 fos 阳性神经元的数目来表示数量。具体判断标准:31~40 个为 + + +, 21~30 个为 + + +, 11~20 为 + +, 2~10 为 +, 2 个以下为 -。

表 1 电击信号应激后 2 小时全脑 c-fos 的表达(n=4)

	Fr	Cg	MeA	CeM	I	Me	La	AC	DMD	Arc	Sol
ES	++++	++++	+++	++++	+++	++++	+++	+++	+++	++++	++++
S	++	+	+	+	++	+	+	-	+	+	+
C	++	++	+	++	+	+	+	+	-	+	++
N	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+

ES: 电击+情绪应激组; S: 电击组; C: 装置对照组; N: 正常对照组额皮质(frontal cortex, Fr); 扣带皮质(cingulum cortex, Cg); 杏仁内侧核前部(anterior part of medial nucleus amygdala, MeA); 杏仁中央核内侧部(medial part of central nucleus amygdala, CeM); 杏仁中介核(intercolated nuclei amygdala, I); 杏仁内侧核(medial nucleus amygdala, Me); 杏仁外侧核(lateral nucleus amygdala, La) 前连合核(nucleus of anterior commissure, AC); 下丘脑背内侧核弥散部(diffuse part of dorsalmedial nucleus hypothalamus, DMD); 弓状核(arcuate nucleus, Arc); 孤束核(solitary nucleus, Sol)。

讨 论

条件反射性性应激是目前常用的情绪应激模型。已有许多研究证实了它对免疫功能的调节作用。我们实验室以电击装置作为信号刺激,诱发有电击经历大鼠的情绪应激,成功地建立了条件反射性情绪应激的体液免疫调节作用的动物模型。在此模型基础上,以 c-fos 原癌基因为探针,可以进一步探讨情绪应激免疫调节作用的中枢机制。

根据实验结果,情绪应激后两个小时,明显表达 c-fos 的脑区包括额皮质及扣带皮质、杏仁内侧核前部、杏仁中央核内侧部、杏仁中介核、杏仁内侧核、杏仁外侧核、前连合核、下丘脑背内侧核弥散部、弓状核、孤束核。该结果一方面表明,情绪应激主要激活这些脑区核团。这与其它此方面的研究报道并不完全一致。例如 Bruijnzeel AW 等同样利用 c-fos 探针发现,一次短暂的情绪应激主要激活以下脑区:额叶皮层、粒细胞脑岛皮层、终纹床核、蓝斑、孤束核、杏仁核基底外侧部、海马 CA1 区、下丘脑室周核、中央灰质底外侧等^[7]。另一方面,本实验结果提示,以上脑区核团可能参与了情绪应激免疫调节作用的中枢机制。

一、额皮质及扣带皮质:额叶皮质在情绪反应的中枢神经环路中的作用已被研究所证实^[8]。目前认为,情绪应激包括条件反射性恐惧和新异环境刺激属于边缘系统敏感性应激源,它们所诱发的应激反应需要脑高级结构的介入如前额叶、海马;而一些生理性应激源如缺血等则属于边缘系统不敏感性应激源,它们可通过直接的通路作用于下丘脑等脑区^[9]。人类临床研究亦证明,前额叶损伤能降低情绪反应^[8]。说明额叶皮质不仅参与了认知活动,还可能在情绪应激反应的中枢调节中发挥作用。扣带回与情绪反应间的关系尚不明确,但已有研究表明,急性电击能引起扣带区 c-fos 表达^[10],而且已知扣带回与边缘系统关系密切,故扣

结 果

与其余三组动物相比,情绪应激组的动物在被给予信号刺激(电击装置)后 2 个小时,某些脑区或核团 c-fos 表达明显增多,包括额皮质及扣带皮质、杏仁内侧核前部、杏仁中央核内侧部、杏仁中介核、杏仁内侧核、杏仁外侧核、前连合核、下丘脑背内侧核弥散部、弓状核、孤束核,详见表 1。

带回也可能参与了情绪应激的中枢环路。

二、杏仁体:由结果所示,情绪应激组动物的杏仁内侧核、外侧核和中央核均明显表达 c-fos。这与其它研究相一致,即杏仁核主要与恐惧情绪相关。另外,以往的研究多认为,杏仁中央核参与了恐惧情绪的生理、行为及内分泌反应,如我国学者常青发现,杏仁中央核损毁能逆转条件反射性恐惧应激引起的细胞免疫功能下降^[11]。Van de Kar 等的研究证实,电损伤杏仁中央核能阻止由条件反射性恐惧应激引起的皮质酮的释放^[12]。而近年来澳大利亚的 Day T. A 等研究认为,杏仁中央核参与物理应激源的信息传递,而杏仁内侧核则参与了情绪应激源的信息传递^[13]。

三、下丘脑核团:已知弓状核既有传出纤维投射至孤束核,又有来自杏仁核的传入纤维,另外研究已证实,弓状核在神经内分泌调节中发挥主要作用,弓状核的神经传入能影响室旁核调节的激素的释放。因此说弓状核可能是杏仁核与孤束核间联系的中继站。我们的实验发现,情绪应激能显著激活下丘脑背内侧核的 c-fos 表达,这与 Pezzone MA 的实验结果相一致。他们的研究证实,条件反射性应激刺激能诱发背内侧核的 c-fos 表达明显增加^[14]。已知 DM 的传出纤维可直接投射至脊髓的植物神经节前神经元,从而调节交感神经的活性。

四、孤束核:孤束核是脑干的自主神经中枢。以往的研究认为,孤束核主要参与味觉、心血管、呼吸、胃肠道活动等反射弧。但我们的实验发现,情绪应激组大鼠孤束核有明显的 c-fos 表达,其余几组动物则没有。这一结果提示,孤束核一方面与吞咽动作、摄水行为、胃肠道反应相关,另一方面还与应激反应相关,这与其它研究结果相一致^[10]。许多实验已证实,各种类型应激源均能激活孤束核的 c-fos 的表达,提示孤束核在应激引起的生理行为及免疫变化方面发挥着重要作用。

基础研究 论著

音乐内容和播放次序对血压血氧饱和度及心率的影响

封文波, 张平, 闫克乐

(河北师范大学教育科学学院心理研究所, 石家庄 050016)

摘要:目的 研究音乐的内容和播放次序对人的血压、血氧饱和度、心率的影响。方法 将摇滚音乐、轻音乐、自然静音三种音乐材料,以不同顺序播放给 30 名大学生(男、女各 15 名),在睁眼清醒状态下聆听,记录他们的血压、血氧饱和度、心率。结果 (1) 音乐内容和播放次序的交互作用对收缩压的影响非常显著 ($P < 0.01$)。 (2) 播放次序对男生舒张压的影响显著 ($P < 0.05$)。 (3) 内容和播放次序的交互作用对血氧饱和度的影响非常显著 ($P < 0.05$)。 (4) 不同性别的学生聆听音乐材料时,音乐内容和音乐播放次序对他们收缩压的影响是不同的 ($P < 0.05$)。结论 不同音乐内容和播放次序对收缩压、血氧饱和度有影响;不同性别受到影响也不一样。

关键词:音乐;血压;血氧饱和度;心率

Effects of different contents and orders of music on blood pressure, oxygen saturation and heart rate FENG Wenbo, ZHANG Ping, YAN Kele. The Institute of Psychology of Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016

Abstract: Objective To study the three different contents and orders of music are played to 30 university students (15 male and 15 female). **Methods** During they listened with their eyes opened, we record their blood pressure, oxygen saturation and heart rate. **Results** (1) The effect of interaction of the content and the order of music on systolic blood pressure shows significant differences ($P < 0.01$). (2) To male students, the effects of the different orders on systolic blood pressure shows significant difference ($P < 0.05$). (3) The effect on oxygen saturation shows significant difference ($P < 0.05$). (4) The effect of orders on diastolic to boy students shows significant difference ($P < 0.05$). **Conclusions** Systolic blood pressure and oxygen saturation are effected by different contents and orders of music. The different sex students are effected differently.

Key words: Music; Blood pressure; Oxygen saturation; Heart rate

中图分类号: Q463 文献标识码: A 文章编号: 1005-8559(2003)02-139-03

音乐不单纯是一种消遣娱乐的方式,它可以作为一种治疗疾病的方法,可以培养在校生的情感和观点,可以缓解运动员的赛前紧张,提高比赛成绩^[1],现代生理学也证明,音乐可以影响人的血压:快节奏的音乐可以使血压升高,轻柔而慢节奏的音乐可以使血压降低。有研究表明,悦耳的音乐通过人体的听觉器官

传入大脑皮层以后,对神经系统是个良好的刺激,对心血管系统、内分泌系统、消化系统以及运动系统具有一定的作用^[2]。音乐心理研究很多是依据经验性的事实,在某种程度上缺乏规范精确的心理科学实验的支持。我们从心理学实验出发,用实验数据来明确音乐的各种因素对人的身心状态的影响和作用。实验目

本实验以 c-fos 原癌基因为探针,利用电击装置为信号的情绪应激免疫调节作用的动物模型,旨在探讨情绪应激免疫调节作用的中枢机制。研究结果提示,额皮质、扣带皮质、杏仁体、前连合核、下丘脑背内侧核弥散部、弓状核、孤束核等脑区核团可能参与了此情绪应激免疫调节作用的中枢机制。有关上述脑区核团在情绪应激免疫调节中的确切作用有待于进一步的研究和探讨。

[参考文献]

- Maes M, Van Bockstaele DR, Gastel A, et al. The effects of psychological stress on leukocyte subset distribution in humans: evidence of immune activation [J]. *Neuropsychobiology*, 1999, 39(1): 1-9.
- Strange KS, Kerr LR, Andrews HV, et al. Psychosocial stressors and mammary tumor growth: an animal model [J]. *Neurotoxicol Teratol*, 2000, 22(1): 89-102.
- Wu W, Yamaura T, Murakami K, et al. Social isolation stress enhanced liver metastasis of murine colon 26L5 carcinoma cells by suppressing immune response in mice [J]. *Life Sci*, 2000, 66(19): 1827-1838.
- 林文娟. 心理神经免疫学的研究及其思路问题[J]. *心理学报*, 1997, 29(3): 301-305.
- Pezzone MA, Lee WS, Hoffman GE, et al. Induction of c-fos Immune Reactivity in the Rat Forebrain by Conditioned and Unconditioned Aversive Stimuli [J]. *Brain Res*, 1992, 597: 41.
- 邵枫, 林文娟, 王玮雯, 等. 电击信号应激对大鼠体液免疫及内分泌功能的影响[J]. *心理学报*, 2000, 32(4): 428-432.
- Bruijnzeel AW, Stam R, Compaan JC, et al. Long-term sensitization of fos-responsibility in the rat central nervous system after a single stressful experience [J]. *Brain Res*, 1999, 819: 15-22.
- Fellous JM. Neuromodulatory Basis of Emotion [J]. *The Neuroscientist*, 1999, 5(5): 283-294.
- Herman JP, Cullinan WE. Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis [J]. *Trends Neurosci*, 1997, 20: 78-84.
- Herrera DG, Robertson HA. Activation of c-fos in the Brain [J]. *Prog in Neurobiol*, 1996, 50: 83-107.
- 常青. 杏仁中央核在应激导致的大鼠细胞免疫及内分泌改变中的中介作用研究[D]. 北京大学博士学位论文, 1998.
- Van de Kar LD, Piechowski RA, Rittenhouse PA, et al. Amygdaloid Lesions: Differential effect on conditioned stress and immobilization-induced increases in corticosterone and renin secretion [J]. *Neuroendocrinology*, 1991, 54: 89-95.
- Day TA, Buller KM, Xu Y, et al. Separation of neural pathways mediating HPA Axis response to emotional and physical stressors [R]. 第三届神经科学大会分会报告, 1999.
- Pezzone MA, Lee WS, Hoffman GE, et al. Activation of brainstem catecholaminergic nervous by conditioned and unconditioned aversive stimuli as revealed by c-fos immunoreactivity [J]. *Brain Res*, 1993, 608: 310.

作者简介: 邵枫(1971-), 女, 博士, 毕业于中国科学院心理研究所。现在北京大学心理系工作, 讲师。

收稿日期: 2002-07-22

编辑校对: 张凯