

[论著]

多巴胺 D₁ 受体参与吗啡介导的小鸡条件性位置偏爱的表达^{*}

肖琳 谭北平 李勇辉 隋南^{**}

(中国科学院心理研究所心理健康重点实验室,北京,100101)

摘要 目的:利用条件性位置偏爱模型探求吗啡对小鸡的奖赏作用及其相关的多巴胺机制。方法:ip 2 mg·kg⁻¹吗啡对小鸡进行4次条件化训练后进行条件性位置偏爱测试,测试前15 min分别ip生理盐水、0.25 mg·kg⁻¹多巴胺 D₁受体拮抗剂SCH23390或者等剂量的多巴胺 D₂受体拮抗剂雷氯必利(raclopride),观察其干预效果。结果:吗啡诱导出小鸡的条件性位置偏爱(P<0.01),条件性位置偏爱的表达被SCH23390阻断(P<0.05),而不受雷氯必利的影响(P>0.05)。结论:吗啡的奖赏作用在鸟类中也有体现,小鸡可以成为研究药物成瘾的合适的模型。多巴胺 D₁受体可能参与对吗啡药物渴求的形成。

关键词 吗啡;条件性位置偏爱;渴求;多巴胺;小鸡

INVOLVEMENT OF DOPAMINE D₁ RECEPTORS ON THE EXPRESSION OF MORPHINE - INDUCED PLACE PREFERENCE IN CHICKS

XIAO Lin, TAN Beiping, LI Yonghui, SUI Nan

(Mental Health Key Laboratory, Institute of Psychology, CAS, Beijing, 100101, P. R China)

ABSTRACT *Objective*: To investigate the rewarding effect of morphine on newly hatched chicks and the role of dopaminergic mechanisms on the expression of morphine - induced place preference. *Methods*: Newly hatched male chicks were administrated with morphine (2 mg·kg⁻¹, intraperitoneally) for 4 conditioning trials, 0.25 mg·kg⁻¹ dopamine D₁ receptor antagonist SCH23390 or the same dose of D₂ receptor antagonist raclopride intraperitoneally injected before the expression of place preference. *Results*: Morphine produced conditioned place preference (CPP) on chicks (P<0.01). The injection of SCH23390 (P<0.05) but not raclopride (P>0.05) abolished the expression of morphine - induced CPP. *Conclusion*: These results suggest that the rewarding effects of morphine may be highly conserved across species. Chicks might serve as an alternative animal model for investigating drugs of abuse. These data also indicate that D₁ receptor is critically involved in morphine - induced craving.

KEY WORDS morphine; conditioned place preference; craving; dopamine; chick

药物渴求(craving)是指药物滥用者对过去体验过的精神活性物质效应的一种难以克制的渴望^[1]。大量的事实表明与药物相关的条件性线索可以引发成瘾者的渴求进而导致复吸的产生。如与酒精、香

烟、阿片、大麻相关的视觉或嗅觉刺激物可引发对相应成瘾物质的渴求,复吸经常发生于成瘾者遇到与以往用药有关的人、环境或其它线索^[2,3]。但对药物相关的刺激如何促发觅药渴求和用药行为的神经生物学机制仍知之甚少。条件性位置偏爱(conditioned place preference, CPP)是一种广泛用于研究成瘾物质奖赏作用的动物模型。它包含了经典条件反射和环境线索。在CPP建立(即获得)阶段需要把药物的奖赏作用和中性刺激(视觉、触觉、味觉等线索)反复联系,使其形成相对稳定的行为模式;而在

^{*}本研究受国家自然科学基金(30170324,30230130)和中国科学院知识创新工程项目(KSCXZ-2-03, KSCX2-SW-204-02)资助。

^{**}通讯作者:010-64850858;传真:010-64857369;E-mail:suin@psych.ac.cn

CPP测试(即表达)阶段,与用药有关的环境刺激即可引发对药物的渴求和觅药行为,表现为动物在伴药侧停留的时间显著增加。因此药物对CPP表达的干预可以认为是对渴求的影响^[1]。

有研究认为多巴胺(dopamine, DA)是阿片类、兴奋剂及其它依赖性药物产生渴求的最终共同的神经递质^[1]。但对不同成瘾药物的具体DA受体机制仍存在争议。虽然在药物成瘾的研究中常用哺乳类如猴子、大鼠等实验动物,但鸟类有其自身的优越性,特别是在与环境线索相关的联接性学习记忆中。鸟类有很好的视觉系统,它们的一些视觉能力如视敏度、颜色视觉、视觉记忆甚至比人类的更好^[4,5]。因此本实验探求吗啡对小鸡的奖赏作用以及参与吗啡渴求的多巴胺机制。

1 材料与方法

1.1 试验动物

京白939一日龄小鸡42只,起始体重 $40\text{ g} \pm 5\text{ g}$ 左右,健康活泼,购自北京市种禽公司,在不锈钢笼($40\text{ cm} \times 20\text{ cm} \times 40\text{ cm}$)内饲养,每笼4只。控制室温 30 ± 2 ,湿度 $60\% \pm 5\%$,保持光照节律(7:00-19:00照明)。自由饮食、饮水。

1.2 试验药物

阿片 μ 受体激动剂盐酸吗啡(morphine hydrochloride)粉剂,青海制药厂生产(青卫药准字(1995)第0113号);多巴胺 D_1 受体拮抗剂SCH23390以及多巴胺 D_2 受体拮抗剂雷氯必利(raclopride, Sigma公司,美国)溶于0.9%的生理盐水后以 $2\text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ 腹腔注射(ip)。

1.3 试验装置

CPP实验系统由4个有机玻璃的实验箱和悬挂在实验箱正上方的摄像头以及与之相连的计算机组成。每个实验箱的体积为 $80\text{ cm} \times 40\text{ cm} \times 35\text{ cm}$,每个箱内中段有一 35 cm 高的抽动隔板,将实验箱分为两个相同体积的小方箱。一侧方箱内壁为红色,磨砂底面;另一侧小方箱内壁为绿色,底板为大小为 $1\text{ cm} \times 1\text{ cm}$ 的栅格面。摄像头同时追踪每个动物在不同实验箱中停留的时间。数据由计算机自动收集。

1.4 试验程序

将42只小鸡随机分为3个实验组和3个生理盐水组,每组7只。条件化前测试:首先对所有小鸡进行两次15 min自然位置偏爱观测,测试其在自然条件下15 min内在两箱中分别停留的时间。基线水平显

示小鸡在红色箱或者绿色箱中的停留时间没有显著性差异($P > 0.05$),说明本实验箱为非偏爱箱,即小鸡对红色箱或者绿色箱没有自然的偏爱。

条件化训练:对实验组随机选择红色侧方箱为给药侧,ip吗啡 $2\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 后立即将动物放入伴药侧,1 h后取出;间隔24 h给予生理盐水 $2\text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ 后放入绿色侧,训练时间皆为1 h。对生理盐水组则两侧方箱均给予 $2\text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的生理盐水。每组训练4次共8 d。条件化后测试:在测试前15 min对各个实验组与各个生理盐水组分别ip生理盐水、 $0.25\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ SCH23390或者 $0.25\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 雷氯必利。将中间隔板抽去,把动物放入两箱中间,测试其在15 min内在两箱中分别停留的时间。

1.5 数据分析

停留伴药侧时间比(TR) = 停留伴药侧的时间 / (停留伴药侧的时间 + 停留非伴药侧的时间)。TR越大表明动物在伴药侧停留时间越长。采用SPSS 10.0 for Windows统计软件包。对TR的变化用多元方差的重复测量分析:条件化前、后测的两次TR值(测试)为组内变量,吗啡、盐水组(分组)和用药(SCH23390或雷氯必利)为组间变量。以独立样本 t 检验进行辅助性的显著性检验。

2 结果

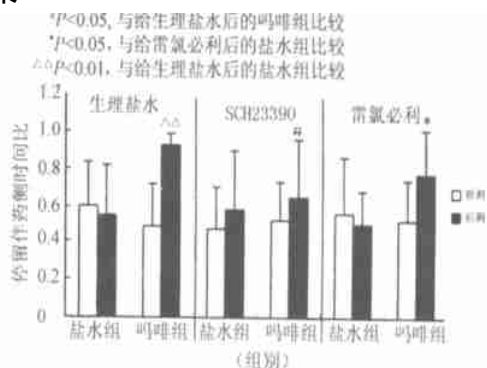


图1 多巴胺受体拮抗剂对吗啡诱导小鸡CPP表达的影响

如图1所示:对CPP测试前给予生理盐水的吗啡组和盐水组的TR变化分析发现,多元方差分析有显著的分组和测试交互作用($P < 0.01$);而且 t 检验显示条件化前测时吗啡组(0.49 ± 0.23)与盐水组(0.60 ± 0.24)无显著性差异($P > 0.05$),而条件化后测时吗啡组(0.93 ± 0.06)比盐水组(0.55 ± 0.27)有显著性的增高($P < 0.01$),说明吗啡诱导小鸡形成了CPP效应。

多元方差分析显示 SCH23390 对吗啡作用后小鸡的 CPP 有显著的降低作用,分组、测试和 SCH23390 的交互作用显著 ($P < 0.05$); t 检验显示,和给予 SCH23390 的盐水组相比,给予 SCH23390 的吗啡组条件化前、后测均没有显著性差异;但是条件化后测和给予生理盐水的吗啡组 ($0.93 \pm s 0.06$) 相比, SCH23390 明显降低了吗啡组 ($0.65 \pm s 0.31$) 的停留伴药侧的时间 ($P < 0.05$)。而多元方差分析表明雷氯必利不能降低吗啡作用后小鸡的 CPP 效应,分组、测试和雷氯必利的交互作用不显著 ($P > 0.05$), t 检验显示,条件化前测时,同时给予雷氯必利的吗啡组 ($0.52 \pm s 0.22$) 与盐水组 ($0.56 \pm s 0.30$) 无显著性差异 ($P > 0.05$);条件化后测时吗啡组 ($0.77 \pm s 0.24$) 比盐水组 ($0.50 \pm s 0.18$) 有显著性的增高 ($P < 0.05$)。这说明 SCH23390 阻断了吗啡诱导的 CPP 的表达,而雷氯必利在该剂量下则没有此作用。

3 讨论

本实验表明吗啡能诱导出小鸡的 CPP,这与 Bronson 等人的实验结果一样^[5]。其它一些研究也证实了药物的奖赏、强化等作用在一些较低等的生物中也有体现。如鸽子、鹌鹑^[4]、斑马鱼 (zebrafish)^[6]、果蝇 (*Drosophila*)^[7] 等都被运用于成瘾的各种研究领域中。这说明成瘾药物具有广泛的生物学基础。大量研究表明不同的成瘾药物都通过直接或间接作用于脑内的奖赏系统,最终引起伏核 (nucleus accumbens, NAc) 的 DA 水平增高^[11]。而基底部的这些核团和前脑的其它区域比较,在长时间的进化过程中并没有较大的改变,一直执行着各种生物体适应外界环境,维持机体存活及种族繁衍所必需的功能,如参与奖赏、动机、学习记忆和情绪的产生^[8]。新近的研究还表明小鸡基底神经节的主要组成部分旁嗅球叶 (lobus paraolfactorius, LPO) 不仅是学习记忆的重要核团,而且和大鼠的 NAc 一样,都参与和奖赏相关的神经活动^[9]。

比较解剖学的证据表明,和哺乳动物相似的是,鸟类端脑的 DA 主要来源于中脑的腹侧被盖区 (ventral tegmental area, VTA) 和伏核 (substantia nigra, pars compacta, SNC, 即相当于哺乳动物的 NAc), DA 神经系统的功能 (如感觉 - 运动的整合、注意和唤醒、学习和记忆等) 也是相似的^[10]。脑内 DA 受体根据不同的受体后传导分为 D₁ 样 (D₁/D₅) 和 D₂ (D₂/D₃/D₄) 样两个亚型。本研究多元方差分析显示 SCH23390 对吗啡作用后小鸡的 CPP 有显著的降低作用,分

组、测试和 SCH23390 的交互作用显著 ($P < 0.05$); t 检验显示,条件化后测和给予生理盐水的吗啡组 ($0.93 \pm s 0.06$) 相比, $0.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ SCH23390 明显降低了吗啡组 ($0.65 \pm s 0.31$) 的停留伴药侧的时间 ($P < 0.05$),说明 SCH23390 阻断吗啡 CPP 的表达。其它关于选择性 DA 受体拮抗剂的对 CPP 的系统研究^[11]发现: SCH23390 的高、中、低剂量 (0.5 、 0.25 、 $0.125 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 都能阻断大鼠吗啡 CPP 的获得。只有高剂量的 SCH23390 能够诱发大鼠产生条件性位置厌恶 (conditioned place aversion, CPA)。说明中、小剂量的 SCH23390 能阻断吗啡的奖赏作用。而对 D₂ 样受体是否参与吗啡介导的 CPP 仍不是十分清楚。一些研究发现,外周给予 D₂ 样受体的拮抗剂如 α -三氟噻吨 (α -flupenthixol), 舒必利 (sulpiride) 和螺哌隆 (spiperone) 不能拮抗吗啡 CPP 的获得。但也有研究表明外周给予雷氯必利 (0.6 、 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 阻断了吗啡 CPP 的获得,有关基因方面的研究证实 D₂ 受体基因缺失的小鼠在 CPP 中吗啡奖赏效果完全被抑制^[11],而且最新研究表明在杏仁核中央核给予舒必利能拮抗吗啡 CPP 的获得和表达^[12]。由于 CPP 模型受到诸多因素的影响,如动物性别、种系、饲养条件、给药途径、药物剂量、训练次数、每次训练时间等^[13],所以虽然本实验表明外周给予雷氯必利 ($0.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 并不能阻断吗啡 CPP 的获得 ($P > 0.05$),但还需进一步的实验证实 D₂ 受体是否参与吗啡诱导的小鸡 CPP。

CPP 模型被用于研究成瘾药物的渴求,但它涉及到诸多心理因素如动机、学习记忆的参与。所以虽然大量研究证明 DA 受体拮抗剂阻断了药物的 CPP,但对其具体机制仍有多种解释。有观点认为 DA 受体拮抗剂不仅阻断了奖赏而且阻断了动机,也有观点认为它们是拮抗了联接式的学习和记忆^[11,12]。这有待于更深入的实验对特定脑区及其神经环路进行研究。

总之,本研究表明吗啡的奖赏作用在鸟类中也有体现, D₁ 受体可能参与吗啡诱导的渴求。在临床实践和实验研究的过程中,人们逐渐认识到:作为一种慢性的脑疾病,药物成瘾的反复发作不仅受制于其生物基础的改变,而且还受到诸多心理因素如动机、情绪、学习记忆的影响。而由于成瘾药物的广泛生物学基础,利用不同动物的优势和特点使得从不同角度、不同层面研究成瘾的生理、心理机制成为可能,其中小鸡可以作为一种合适的模型。

4 参考文献

- 1 刘 闯, 郑继旺. 药物渴求[J]. 中国药物依赖性杂志, 1999, 8(1), 19 - 22
- 2 Berke JD, Hyman SE. Addiction, dopamine, and the molecular mechanisms of memory[J]. Neuron, 2000, 25: 515 - 532
- 3 Nestler EJ. Total recall - the memory of addiction[J]. Science, 2001, 292: 2266 - 2267
- 4 Levens N, Akins CK. Cocaine induces conditioned place preference and increases locomotor activity in male Japanese quail[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2001, 68: 71 - 80
- 5 Bronson ME, Wages TD, Beddingfield T, et al. Morphine, MDMA, and nucleus accumbens produce a conditioned place preference in newly hatched chickens[J]. Exp Clin Psychopharmacol, 1996, 4: 352 - 362
- 6 Darland T, Dowling JE. Behavioral screening for cocaine sensitivity in mutagenized zebrafish[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(20): 11691 - 11696
- 7 Bainton RJ, Tsai LT, Singh CM, et al. Dopamine modulates acute responses to cocaine, nicotine and ethanol in Drosophila[J]. Current Biology, 2000, 10: 187 - 194
- 8 Dichiaro G. Nucleus accumbens shell and core dopamine: differential role in behavior and addiction[J]. Behav Brain Res, 2002, 137: 75 - 114
- 9 Yanagihara S, Izawa E, Koga K, et al. Reward-related neuronal activity in basal ganglia of domestic chicks[J]. Neuroreport, 2001, 12: 1431 - 1435
- 10 Durstewitz D, Koener S, Guentherkuen O. The dopaminergic innervation of the avian telencephalon[J]. Prog Neurobiol, 1999, 59: 161 - 196
- 11 Manzanedo C, Aguilar MA, Rodriguez-Arias M, et al. Effects of dopamine antagonists with different receptor blockade profiles on morphine-induced place preference in male mice[J]. Behav Brain Res, 2001, 121(1-2): 189 - 197
- 12 Rezayof A, Zamindast M, Sahraei H, et al. Involvement of dopamine D₂ receptors of the central amygdala on the acquisition and expression of morphine-induced place preference in rat[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2002, 74: 187 - 197
- 13 Bardo MT, Rowlett JK, Harris MJ. Conditioned place preference using opiate and stimulant drugs: a meta-analysis[J]. Neurosci Biobehav Rev, 1995, 19(1): 39 - 51

收稿日期: 2003 - 08 - 25 修回日期: 2003 - 12 - 04

[病例报告]

盐酸曲马朵致成瘾一例报告

郑 泉^{1*} 李 静²

¹(四川省仁寿县精神卫生保健院, 仁寿, 610500)

²(四川大学华西医院心理卫生中心, 成都, 610041)

患者男, 23 a, 学生, 未婚。因吸食海洛因成瘾, 经脱毒后服用曲马朵 1 a 成瘾, 于 2003 年 6 月 23 日入院。

患者于 2002 年 4 月戒毒出院后出现双下肢酸痛, 在当地医院就诊, 接受盐酸曲马朵治疗, 剂量为 100 mg·d⁻¹, 服用后出现类海洛因样欣快感。1 周后, 如不服用则出现哈欠、出汗、心慌、怕冷、上腹部胀痛、便秘、入睡困难、兴趣减退、情绪低落、易激越等症状, 服用后则上述症状迅速缓解。曲马朵最大剂量 300 mg·d⁻¹, 最小剂量为 50 mg·d⁻¹, 平均日剂量为 100 mg·d⁻¹, 因严重影响学习及生活, 入院前 1 月, 曾在院门诊就诊, 尿吗啡检测阴性, 予以博乐欣 75 mg, 每日 2 次、氯硝西泮 4 mg, 每日 2 次, 心得安 20 mg, 每日 2 次治疗。在院外因不能耐受上述症状, 继续服用曲马朵 100 mg·d⁻¹。入院当天服用曲马朵 100 mg。入院做尿吗啡检查阴性, 体格检查无异常, 神经系统无阳性病理征; 精神检查: 焦虑、情绪低落、易激惹, 多诉躯体不适。予以 0.9% 生理盐水 250 ml + 氯硝

西泮 1 mg, 静脉滴注 3 d, 口服博乐欣 75 mg, 每日 2 次, 心得安 10 mg, 每日 3 次, 阿普唑仑 0.8 mg, 每日 3 次等药物治疗 10 d 后, 上述症状消除, 尿吗啡检测阴性, 痊愈出院。

讨论: 该患者吸食海洛因成瘾经脱毒治疗后, 因出现疼痛等稽延性戒断症状, 而服用盐酸曲马朵持续时间 1 a, 符合精神活性物质依赖症状的诊断标准。盐酸曲马朵为非阿片类中枢性镇痛药, 但与阿片受体有很弱的亲和力, 通过抑制神经元突触对去甲肾上腺素的再摄取, 增加神经元外 5-羟色胺浓度, 影响痛觉传递而产生镇痛作用, 口服 10 - 20 min 后起效, 25 - 35 min 达到峰值, 作用维持 4 - 8 h。从盐酸曲马朵的药理作用分析, 该药对阿片类受体有一定激动作用, 对有阿片类物质依赖基础的患者, 因神经系统中存在奖赏机制, 可促使产生新的依赖。在临床医疗中, 对疼痛患者应注意判断患者是否有物质依赖的基础, 合理选用镇痛药物。

收稿日期: 2003 - 08 - 25

修回日期: 2003 - 11 - 12

* 现为四川大学华西医院心理卫生中心进修生