

条件反射性免疫抑制激活过程中下丘脑核团 c-fos 的表达*

李杰 林文娟 郑丽 李波

(中国科学院心理研究所脑-行为研究中心, 北京 100101)

摘要 利用经典条件反射性免疫抑制的动物模型,以糖水为条件刺激(CS),免疫抑制剂-环磷酰胺为非条件刺激(UCS),观测两次CS-UCS结合训练后,再次条件刺激诱发条件反射性免疫抑制作用的动态改变,获得条件反射性免疫抑制和味觉厌恶性条件反射各自保持的情况,并在此基础上,采用c-fos免疫组化技术,进一步观察再次条件刺激诱发条件反射性免疫抑制反应时大鼠下丘脑各核团内FOS蛋白的表达情况。结果表明,条件反射性免疫抑制作用在训练后第5天较强,第30天基本消失,而味觉厌恶性条件反射始终稳定保持到第30天。进一步研究显示,下丘脑室旁核FOS蛋白表达在第5天非常密集,而第30天几乎没有表达,与细胞免疫功能改变在时程和趋势上具有一致性。通过FOS蛋白表达时程差异比较,提示下丘脑室旁核可能是CNS内介导CS诱导的免疫抑制效应的重要核团。

关键词 条件反射性免疫抑制,下丘脑核团,c-fos,大鼠。

分类号 B845

1 问题提出

自从行为条件反射调节免疫研究初次报道后^[1],传统认为免疫系统是机体内一个独立于神经系统的自主防御系统的学说受到冲击,人们也第一次认识到中枢神经系统(central nervous system, CNS)参与免疫调节。随后大量研究工作证实,神经系统和免疫系统从分子、细胞到整体等各个水平都存在密切关系^[2,3]。一些脑区如下丘脑、自主神经系统、脑干系统及新皮质已被证明参与神经-免疫系统相互作用的调节^[4]。尽管许多研究显示出条件反射性免疫抑制(conditioned immunosuppression, CIS)的重要性和适用性^[5],但迄今为止有关CIS所涉及神经中枢的研究却鲜见报道,而上述脑区是否也参与调节CIS仍不确定。

我们以往的研究发现,不论一次性或两次性的条件刺激(conditioned stimulus, CS)与非条件刺激(unconditioned stimulus, UCS)结合训练都能使动物建立味觉厌恶性条件反射(conditioned taste aversion, CTA),而只有两次性CS-UCS结合训练,再次呈现条件刺激给动物时才能表现出明显的条件反射性免

疫抑制(CIS),这提示CTA与CIS表现程度并不同步,它们在脑中的调节机制可能相互独立^[6]。基于已有实验证明下丘脑是CNS中重要免疫调节中枢^[7,8],本研究采用两次CS-UCS结合训练,首先观测在条件训练后第5天和第30天再次给予条件刺激激发CIS过程中细胞免疫功能的时程变化及CTA的改变,获得CIS与CTA各自保持的动态变化情况,在此基础上,利用c-fos免疫组化手段进一步观察了两次CS-UCS结合条件训练后,再次条件刺激激发条件反射性免疫抑制反应过程中下丘脑各核团FOS蛋白表达的动态变化,揭示下丘脑中参与条件反射性免疫抑制反应相关的核团。

2 材料与方法

2.1 实验一

2.1.1 实验对象 50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。所有动物均单笼饲养,控制室温(22±1),12小时光暗交替(7:00~19:00照明)。实验动物进入实验室最初4天为适应环境期,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

收稿日期:2003-08-25

*中国科学院重点基金和国家自然科学基金以及中国科学院创新工程资助(KSCX2-2-03)

通讯作者:林文娟, E-mail: Linwj@psych.ac.cn

操作。随后 7 天为定时饮水期,在此期间每天 8:30 给动物饮水,30 分钟后撤走水瓶。

2.1.2 实验程序 为了排除实验动物再次接受糖精水(saccharin, SAC)时,因味觉厌恶反应少喝或不喝 SAC 而可能造成的缺水应激,采用了两瓶水的实验方案,即先给予动物饮 SAC,5 分钟后再给予一瓶自来水供动物选择饮用。开始实验的当日即条件反射训练日(第 0₁天),所有大鼠被随机分成 3 组,条件刺激组(CS),非条件刺激对照组(UCS)和糖精水对照组(CS₀),各组动物数见表 1。给 CS 组动物一瓶自来水和一瓶 0.25% SAC,饮 30 分钟后撤走水瓶,立即腹腔注射环磷酰胺(cyclophosphamide, CY)(50mg/kg,溶解于生理盐水至浓度 20mg/ml)。UCS 组动物饮用两瓶自来水,30 分钟后腹腔注射相同剂量的 CY。CS₀组动物饮一瓶自来水和一瓶 0.25% SAC,饮用 30 分钟后腹腔注射相应剂量的生理盐水。第二天(第 0₂天)完全重复第一天的训练程序。然后分别在训练后第 5 和第 30 天再次呈现单纯条件刺激,即给予 CS 和 CS₀组动物一瓶 SAC 和一瓶自来水,而给 UCS 组动物两瓶自来水,30 分钟后撤走水瓶,腹腔注射生理盐水。24 小时后处死动物^[6],取外周血用 20μl 肝素(1mg/ml)抗凝,白细胞总数测定用 JXJ-6 白细胞分类计数器在显微镜下计数白细胞和淋巴细胞数量。取脾测试淋巴细胞转化反应。同时记录条件反射训练和条件刺激测试当天动物 SAC 或清水的饮用量,整个实验程序如表 1 所示。

表 1 对细胞免疫功能的条件反射性免疫抑制的实验程序

组别	条件反射训练 第 0 ₁ 和 0 ₂ 天	条件刺激 第 5 天	取样 第 6 天	条件刺激 第 30 天	取样 第 31 天
CS	SAC + CY	SAC + SAL (n ₅ = 9)	血,脾	SAC + SAL (n ₃₀ = 9)	血,脾
UCS	WAT + CY	WAT + SAL (n ₅ = 8)	血,脾	WAT + SAL (n ₃₀ = 8)	血,脾
CS ₀	SAC + SAL	SAC + SAL (n ₅ = 7)	血,脾	SAC + SAL (n ₃₀ = 9)	血,脾

注:表中 n 为动物只数,n₅为条件训练后第 5 天再次条件刺激各组动物数;n₃₀为条件训练后第 30 天再次条件刺激各组动物数。CS:条件刺激组;UCS:非条件刺激对照组;CS₀:糖精水对照组;SAC:糖精水;CY:环磷酰胺;SAL:生理盐水

2.1.3 脾淋巴细胞转化反应 在超净工作台内无菌取出脾脏,放入 RPMI1640 溶液(GIBCO 公司产品)中,经过 200 目不锈钢网磨碎后,过尼龙布,用 Hanks 液洗 3 次,制成 4 × 10⁶/ml 细胞悬液,然后加入 96 孔平底板中(0.2ml/孔),并同时分别加入浓度为 8μg/

ml ConA, 5μg/ml LPS, 2.5μg/ml PWM 和 100μg/ml PHA,每一样品重复三个孔,然后放入 CO₂ 孵育箱中(37℃, 5% CO₂) 培育,48 小时后加入³H-甲基胸腺嘧啶(³H-TdR) 1μCi/孔,继续培养 12 小时,然后以多头细胞收获器收集细胞于玻璃纤维纸上,烤干后用(计数仪测定放射活性,以 cpm 值表示)。

2.2 实验二

2.2.1 实验对象和程序 40 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。实验程序同实验一,在第 5 天条件刺激实验中,CS 组 8 只,UCS 组 6 只,CS₀组 6 只,第 30 天条件刺激实验中,动物分组和动物数类同第 5 天。根据已往的研究和我们的预实验的结果,发现由刺激所诱导的脑内 fos 蛋白表达在训练后 2~3 小时检测时最强^[7],因此再次单独条件刺激后 2~3 小时对所有的动物进行麻醉、分批灌流处理以及 c-fos 免疫组化实验的全步骤见表 2。

表 2 条件反射训练及条件训练后第 5 天和第 30 天再次条件刺激动物的处理程序

组别	条件反射训练 第 0 ₁ 天和第 0 ₂ 天	条件刺激 第 5 天	3h 后	条件刺激 第 30 天	3h 后
CS	SAC + CY	SAC + SAL (n ₅ = 8)	麻醉	SAC + SAL (n ₃₀ = 8)	麻醉
UCS	WAT + CY	WAT + SAL (n ₅ = 6)	灌流	WAT + SAL (n ₃₀ = 6)	灌流
CS ₀	SAC + SAL	SAC + SAL (n ₅ = 6)		SAC + SAL (n ₃₀ = 6)	

注:表中 n 为动物只数,n₅为条件训练后第 5 天再次条件刺激各组动物数;n₃₀为条件训练后第 30 天再次条件刺激各组动物数。CS:条件刺激组;UCS:非条件刺激对照组;CS₀:糖精水对照组;SAC:糖精水;CY:环磷酰胺;SAL:生理盐水

2.2.2 c-fos 免疫组化实验测定 灌流程序:条件反射训练后 3 小时,在动物房内,用腹腔注射 10% 的水合氯醛(3.5ml/kg)深度麻醉动物。30 分钟内,打开所有大鼠胸腔,通过左心室升主动脉插管灌流。首先用 37℃ 左右的 100~120ml 生理盐水快速冲灌,继之以 4℃,500ml,4% 的多聚甲醛固定液(溶于 0.1M PBS)灌流 1~1.5h。灌注完后开颅腔取脑,投入多聚甲醛固定液中后固定 3~4h,后置于 20% 的蔗糖溶液(0.1M PBS 配制)中于 4℃ 下进行交换。24h 后,取出鼠脑组织,-20℃ 下迅速冷冻,在冰动切片(型号)上切成 40μm 厚的冠状脑切片,片距 120μm (隔三留一),收集于 0.01M PBS 中漂浮过夜(4℃)。 **2.2.3 c-fos 免疫组化步骤** 将所有漂浮的脑片取出用 0.01M PBS 在微波震荡器上震荡充分漂洗(3 ×

5min)。倾尽洗液后,在 0.3% H_2O_2 /无水甲醇中孵育 30min,充分漂洗并倾尽洗液后,在 0.3% Triton X-100 (0.01M PBS 稀释)中孵育 20 分钟,倾尽液体后直接换入 5% 的正常山羊血清,10 分钟后倾尽液体,加入抗 FOS 血清(1:400,含 0.1% NaN_3 的 0.01M PBS),4 孵育 24~48h。取出漂浮的脑片置于 37 孵育 30 分钟后,用 0.01M PBS 充分漂洗并倾尽洗液后,采用 ABC(avidin-biotin-peroxidase)染色。即首先用生物素标记的羊抗兔 IgG 抗血清(1:200,0.01M PBS)37 孵育 40 分钟,充分漂洗并倾尽洗液后,加入 SP-HRP 在 37 下孵育 40 分钟,充分漂洗并倾尽洗液后,过氧化物酶活性通过 0.25% DAB (diaminobenzidin,溶于 0.1M PBS 和 0.03% H_2O_2) 来显示。显色充分后用流水冲洗终止反应。用稀释的络钼明胶裱片,在系列浓度的乙醇中脱水,二甲苯透

明,中性光学树胶封片,光学显微镜下观察结果。

2.2.4 数据处理 两组间数据比较采用 t 检验, $p < 0.05$ 为有显著性差异。

3 结果

3.1 训练前后 SAC 饮用量

在第一个条件反射训练日,所有 CS 和 CS_0 动物 SAC 饮用量都很接近。训练后第 5 天再次单独给予 SAC, CS_0 组动物饮用量显著增加,CS 组动物饮用量则明显减少,并显著低于 CS_0 组的水平(图 1, t 检验, $p < 0.0001$)。训练后第 30 天单独给予 SAC 时,所有 CS_0 组动物的饮用量都接近于第 5 天的水平,而 CS 组动物的饮用量则保持在远远低于 CS_0 组的水平(图 2, t 检验, $p < 0.0001$)。

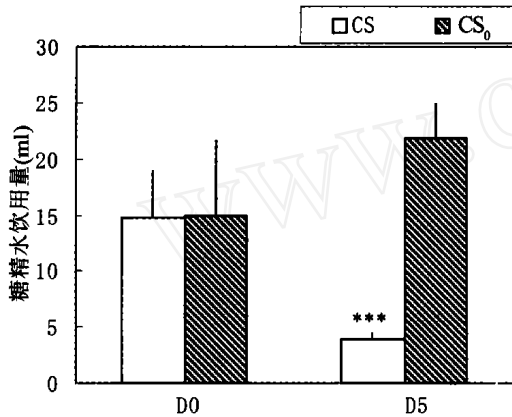


图 1 条件反射训练日和条件反射训练后第 5 天再次条件刺激动物糖精水饮用量($M \pm SD$)

注: D0 条件反射训练日, D5 条件反射训练后第 5 天给予 CS, D30 条件反射训练后第 30 天给予 CS

CS: 条件刺激组; CS_0 : 糖精水对照组; *** CS_0 与 CS 相比, $p < 0.0001$

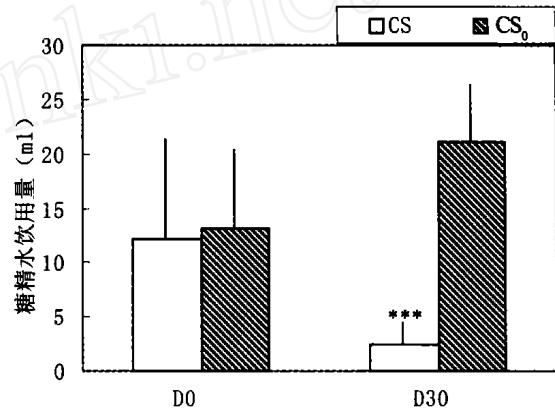


图 2 条件反射训练日和条件反射训练后第 30 天再次条件刺激动物糖精水饮用量($M \pm SD$)

3.2 脾淋巴细胞增殖反应

由于脾淋巴细胞对 ConA 和 PHA 的增殖反应的基础值分别在第 5 天和第 30 天条件刺激的实验中有较大的批间差异,因此每次测定 CS_0 组的值定为 100%,以 CS 组或 UCS 组与 CS_0 组的比值进行分析。训练后第 5 天再次给予条件刺激后,CS 组动物脾淋巴细胞的 ConA 转化反应的 cpm 值比 UCS 组显著降低(t 检验, $p < 0.05$),PHA 转化反应的 cpm 值与 UCS 组比表现出更显著的降低(t 检验, $p < 0.01$)。训练后 30 天再次条件刺激后,CS 组与 UCS 组动物在脾淋巴细胞的 ConA 和 PHA 转化反应的 cpm 值相比较无统计学差异。如图 3、图 4。

3.3 外周血白细胞和淋巴细胞数量

训练后第 5 天给予条件刺激后,CS 组和 UCS 组动物外周血白细胞和淋巴细胞的数量均明显下降,与 CS_0 组比有极显著差异(t 检验, $p < 0.0001$),尤其 CS 组降低更甚,达到显著低于 UCS 组的水平(t 检验, $p < 0.05$)。而在训练后第 30 天给予条件刺激的动物中,CS 组与 UCS 组动物的外周血白细胞和淋巴细胞的数量均达到 CS_0 对照组的水平(t 检验, $p > 0.05$)。见图 5、图 6。

3.4 条件刺激在训练后第 5 天、第 30 天诱导下丘脑内的 c-fos 表达

所有对下丘脑内 FOS 蛋白表达的量化描述都以表 3 所注的标准为基础,采用的术语参照王平宇等^[8]与 Paxinos^[9]的大鼠脑图谱。

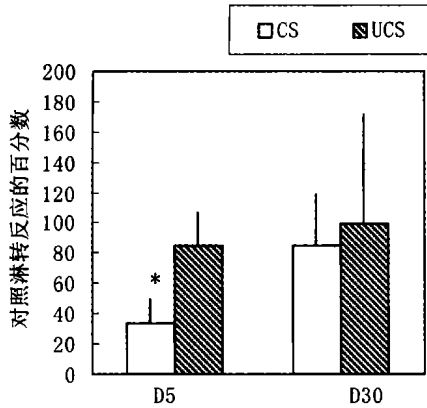


图3 训练后第5天和30天脾淋巴细胞对 ConA 的增殖反应

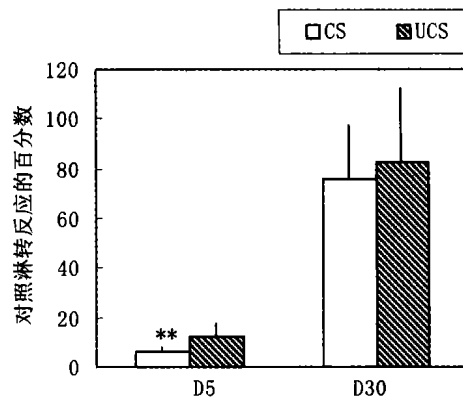


图4 训练后第5天和30天脾淋巴细胞对 PHA 的增殖反应

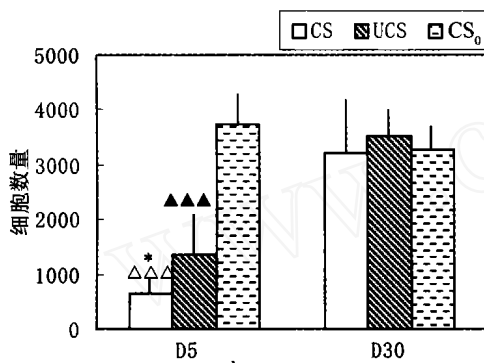


图5 条件反射训练后第5天和第30天再次条件刺激血淋巴细胞数量 (M ± SD)

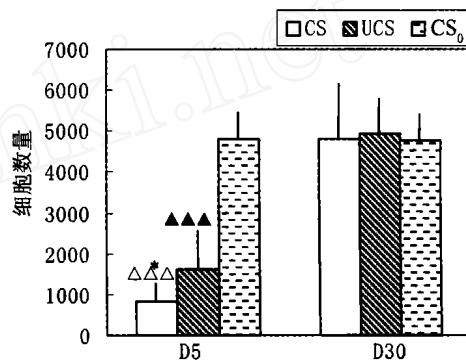


图6 条件反射训练后第5天和第30天再次条件刺激血白细胞数量 (M ± SD)

注: D5 条件反射训练后第5天给予 CS D30 条件反射训练后第30天给予 CS

CS: 条件刺激组; UCS: 非条件刺激对照组; CS₀: 糖水对照组;

CS 与 UCS 相比, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, $\Delta\Delta\Delta$: CS 与 CS₀ 相比, $p < 0.0001$, $\blacktriangle\blacktriangle\blacktriangle$: UCS 与 CS₀ 相比, $p < 0.0001$

训练后第5天分别给予 CS、CS₀和 UCS 组动物饮 SAC 与清水, 3 小时后对所有动物下丘脑内的 FOS 蛋白表达进行检测, 结果如表 3 所示。

UCS 组动物下丘脑视前区正中视前核 (MnPO)、下丘脑外侧前核 (LA)、视交叉上核 (Sch)、下丘脑室旁核 (PVN) 的背侧部等脑区检测到少量 FOS 蛋白。CS₀ 组动物中, FOS 蛋白阳性表达主要发生在下丘脑视前区 MnPO、Sch、DM 部位。CS 组动物下丘脑内 PVN 与视上核 (SO) 的 FOS 阳性表达水平非常高, 在 MnPO、Sch、DM 及弓状核 (Arc)、下丘脑后核 (PH)、乳头体上核 (SuM) 等脑区亦有 FOS 蛋白阳性表达。

训练后 30 天给予条件刺激后, UCS 组动物只在 DM、结节区 (TC) 部位产生了少量的 FOS 蛋白表达。CS₀ 组动物各核团内 FOS 蛋白的分布与训练后第 5 天基本相同。唯有 CS 组动物各核团内 FOS 蛋白阳性表达的分布显示出与训练后第 5 天不同的特点,

PVN 和 SO 的表达显著降低, Sch 和 Arc 的表达也明显减少, 结果如表 3 所示。

4 讨论

实验一结果表明, CTA 一经建立便持续稳定存在, 即使在条件反射训练后 30 天仍然保持很高的水平, 而 CIS 保持的时程效应较短, 在第 5 天可诱导出脾细胞转化反应和血淋巴细胞及白细胞的数量等免疫功能的抑制作用, 第 30 天各种免疫参数已恢复到正常水平, 条件性免疫抑制基本消失。将条件反射训练后免疫功能的改变与糖精水的饮用量的变化综合起来分析, 不难发现 CTA 与 CIS 在时程效应上具有共存和分离的特征, 提示参与调节这两种反应的特异相关脑中枢可能也存在 CTA 与 CIS 交叉与分离的现象。也就是说 CS - UCS 结合训练后第 5 天条件刺激 SAC 对 CS 组动物脑区或核团的激活可能既

有 CIS 的成分,又包含了 CTA 的作用。而训练后 30 天所激活的脑区或核团则主要与 CTA 的表达有关。

基于这一想法,进一步研究了再次 CS 诱发条件反射性免疫抑制时下丘脑内 FOS 蛋白的动态变化。

表 3 条件反射训练后第 5 天和第 30 天给予条件刺激后大鼠下丘脑内各核团 FOS 蛋白表达

组别	训练后 (天)	视前区			视上区						结节区				乳头区	
		MnPO	LPO	PVN	SO	Sch	AC	AH	LA	LH	DM	VMH	Arc	TC	PH	SuM
CS	5	+++	0	++++	+++	++	0	+	+	+	++	0	++	+	++	++
UCS	5	+++	0	++	0	++	0	0	+	+	+	0	0	+	+	+
CS ₀	5	+++	0	0	0	++	0	0	0	+	++	0	0	+	++	+
CS	30	++	0	0/+	+	0	0	++	+	+	+	0	0	+	+	+
UCS	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	+	0	0
CS ₀	30	++	0	0	0	0	0	++	+	+	++	0	0	+	+	++

注:1 MnPO:正中视前核,LPO:外侧视前区,PVN:室旁核,SO:视上核,Sch:视交叉上核,AC:前连合核,AH:下丘脑前核,LA:下丘脑外侧前核,LH:下丘脑外侧区,DM:背内侧核,VMH:腹内侧核,Acr:弓状核,TC:结节区,PH:下丘脑后核,SuM:乳头体上核
 2 脑区间 FOS 蛋白表达相对水平:++++ 非常密集;+++ 密集;++ 比较密集;+ 稀疏;0/+ 微量或染色很浅;0 检测不到
 3 表中结果来自 Wistar 大鼠脑冠状切面(40μm)。所有脑片均在光学显微镜下观察并进行半量化分析(semi-quantitative assay),用 FOS 阳性细胞的数量和细胞核染色的深浅作为定量的标准。

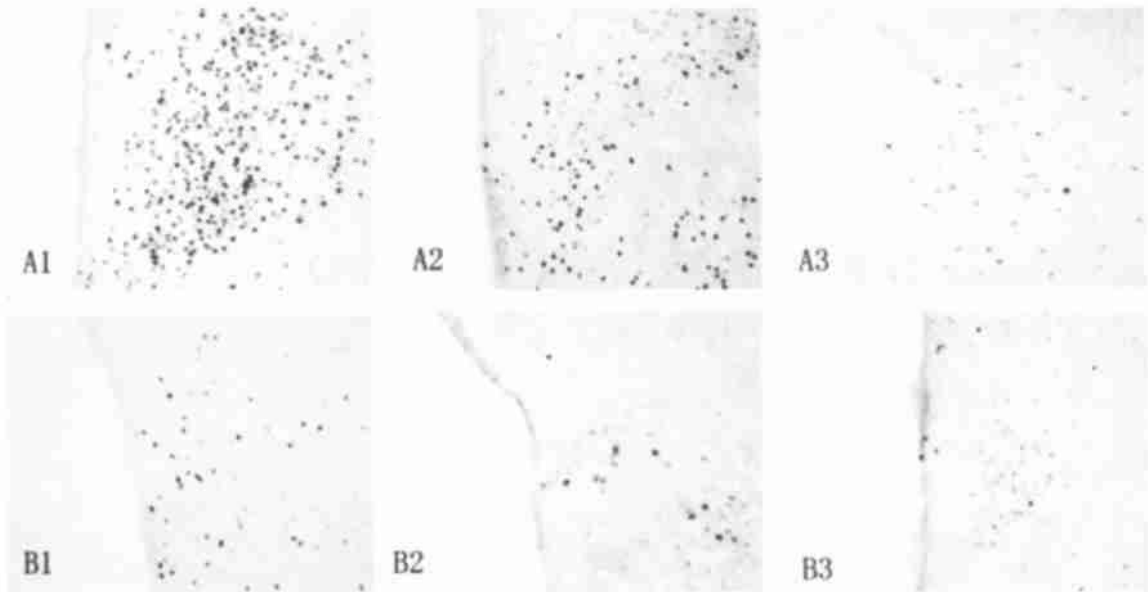


图 5 条件训练后第 5 天和第 30 天再次条件刺激下丘脑室旁核 FOS 蛋白表达(光镜 10 ×10)
注:A- 第 5 天,B- 第 30 天,1- CS 组,2- UCS 组,3- CS₀组,3V- 第 3 脑室

实验二结果显示,在训练后第 5 天和第 30 天再次 CS 诱导下丘脑各核团内 FOS 蛋白阳性表达存在明显差异,其中最明显的是 CS 组动物下丘脑 PVN 核团在训练后第 5 天 FOS 蛋白表达特别密集,而训练后 30 天则几乎没有表达(见图 5)。比较训练后第 5 天和第 30 天 CS 组动物下丘脑各核团内 FOS 蛋白阳性表达的分布,提示 PVN 主要与 CIS 特异相关。已有研究表明 PVN 是下丘脑中最显著的核团,既对外周免疫刺激发生反应^[10, 11],又通过多种途径参与调节免疫系统的功能,被认为是 CNS 免疫调节的整合中心^[12~14]。研究证实 PVN 内侧小细胞部含

有丰富的 CRH 神经元,所释放的 CRH 是激活 HPA 轴的重要因素,而 HPA 轴被证明是介导应激诱导的免疫抑制的重要通路^[15, 16]。结合本实验研究结果,推测 HPA 轴的激活可能是 CS 诱导条件反射性免疫抑制效应的 CNS 途径之一,而 PVN 可能是启动参与免疫调节的 HPA 轴的重要核团。

但有学者认为条件反射性免疫调节机制涉及神经内分泌通路、自主神经系统及免疫系统的反馈调节等方面,单一的通路不能完全解释条件反射性免疫抑制效应^[17]。Lysle 等^[18]的研究证实交感神经系统参与了 CS 诱导的部分免疫抑制作用。有研究报

道下丘脑 PVN 的小细胞部发出神经纤维投射到脑干自主运动中枢和脊髓外侧角,进而作用于交感或副交感节前神经元,调节免疫器官和免疫细胞的功能^[19]。以上现象说明,CS 还可能通过 CNS 对交感神经支配来再现 UCS 的免疫抑制效应,下丘脑 PVN 可能是 CNS 内介导 CS 诱导的免疫抑制效应的重要核团。

已有实验表明,在条件训练前损毁小鼠 Arc 后能阻断条件反射性 NK 细胞活性增高,但在条件刺激前损毁则没有影响,提示下丘脑弓状核对条件反射性免疫应答的 CS/UCS 结合有重要作用^[20]。本实验中弓状核和视上核在条件训练后第 5 天再次条件刺激后 CS 组有较明显的 FOS 蛋白阳性表达,而第 30 天 FOS 蛋白阳性表达较少或几乎没有,其余两组无论第 5 天还是 30 天均未见到 FOS 蛋白阳性表达,这提示弓状核和视上核可能是参与条件反射性免疫调节中学习记忆的必要结构,属于 CIS 反应过程中非特异性表达。而正中视前核(MnPO),背内侧核(DM)及乳头区的核团似乎更多地与 CTA 的建立有关,其中背内侧核、乳头体上核与 CTA 的关系已有报道^[21]。其它核团有待进一步研究和证实。

参 考 文 献

- Ader R, Cohen N. Behaviorally conditioned immunosuppression. *Psychosomatic Medicine*. 1975, 37: 333 ~ 340
- Besedovsky H O, Del Rey A. Immune - neuro - endocrine interactions: facts and hypotheses. *Endocrine Rev*. 1996, 17(1): 64 ~ 102
- Blalock J E. The syntax of immune - neuroendocrine communication. *Immunology Today*. 1994, 15(11): 504 ~ 511
- Ader R, Cohen N, Felten D. Psychoneuroimmunology: interactions between the nervous system and the immune system. *Lancet*, 1995, 345: 99 ~ 103
- Godkin K, Fletcher M. A., Cohen N. Clinical aspects of psychoneuroimmunology. *Lancet*, 1995, 345: 183 ~ 184
- Lin W J, Wei X, Guo Y J, et al. Study on conditioned immunosuppression and conditioned taste aversion. *Acta Psychologica Sinica*, 1998, 30(4): 418 ~ 422
(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)
- Yang J, Lin W J, Johansson J, et al. Expression of fos protein in the brain after conditioned taste aversion was established. *Acta Psychologica Sinica*, 2000, 32(4): 433 ~ 437
(杨杰, 林文娟, Johansson J 等. 味觉厌恶性条件反射建立后脑内 c - fos 的表达. *心理学报*, 2000, 32(4): 433 ~ 437)
- Wang P Y, Zhang F Z. Atlas and summary on the brain of rat. Publishing company of Northwest University, 1995
(王平宇, 张凤真. 大鼠脑读片提要及图谱. 西北大学出版社, 1995)
- Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. (Second edition). Academic Press Inc, Sydney, 1986
- Schmidt E D, Aguilera G, Binnekade R, et al. Single administration of interleukin - 1 increased corticotropin releasing hormone and corticotropin releasing hormone - receptor mRNA in the hypothalamic paraventricular nucleus which paralleled long - lasting (weeks) sensitization to emotional stressors. *Neuroscience*, 2003, 116(1): 275 ~ 283
- Quan N, He L, Lai W. Endothelial activation is an intermediate step for peripheral lipopolysaccharide induced activation of paraventricular nucleus. *Brain Res Bull*, 2003, 59(6): 447 ~ 452
- Brady L, Lynn A B, Herkenham et al. Systemic interleukin - 1 induces early and late pattern of c - fos mRNA expression in brain. *J Neurosci*, 1994, 14(8): 4951 ~ 4964
- Buller K M. Neuroimmune stress responses: reciprocal connections between the hypothalamus and the brainstem. *Stress*, 2003, 6(1): 11 ~ 17
- Rivest S. How circulating cytokines trigger the neural circuits that control the hypothalamic - pituitary - adrenal axis. *Psychoneuroendocrinology*. 2001, 26(8): 761 ~ 788
- Irwin J, Livnat S. Behavioral influences on the immune system: stress and conditioning. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 1987, 11(2 - 3): 137 ~ 143
- Dunn A J. Role of cytokines in infection - induced stress. *Ann. N. Y. Acad. Sci*, 1993, 696: 189 ~ 202
- Ader R. Conditioned immunomodulation: research needs and directions. *Brain Behav Immun*, 2003, 17 Suppl 1: S51 ~ 57
- Lysle D T, Coussons - Read M E. Mechanisms of conditioned immunomodulation. *Int J Immunopharmacol*, 1995, 17(8): 641 ~ 647
- Yang H, Wang L, Ju G. Evidence for hypothalamic paraventricular nucleus as an integrative center of neuroimmunomodulation. *Neuroimmunomodulation*, 1997, 4(3): 120 ~ 127
- Ghanta V K, Rogers C F, Hsueh C M, et al. Role of arcuate nucleus of the hypothalamus in the acquisition of association memory between the CS and US. *J Neuroimmunol (NETHERLANDS)*, 1994, 50(1): 109 ~ 114
- Bellinger L L, Evans J F, Getzen D W. Dorsomedial hypothalamic lesions alter intake of imbalanced amino acid diet in rats. *J Nutr*, 1998, 128(7): 1213 ~ 1217

CONDITIONED IMMUNOSUPPRESSION AND THE EXPRESSION OF C-FOS IN THE HYPOTHALAMIC NUCLEI

Li Jie , Lin Wenjuan , Zheng Li , Li Bo

(*Brain - behavior Reseach Center , Institute of Psychology , Chinese Academy of Science , Beijing 100101 , China*)

Abstract

Although there have been many reports that conditioned immunosuppression (CIS) can be achieved through behavioral conditioning techniques, little is known about the neural mechanisms of CIS. In this study, cyclophosphamide (CY) was used as an unconditioned stimulus (UCS) with saccharin as the conditioned stimulus (CS) in a conditioned taste aversion (CTA) paradigm. Both CTA and CIS as assessed by peripheral leukocyte and lymphocyte were examined by one re-exposure to CS at intervals of 5, 30 days after two trials of CS - UCS pairing. The effect of one re-exposure to CS on the expression of FOS-protein in the hypothalamus nucleus was also observed correspondingly. The results showed that CTA occurred on both day 5 and day 30 after conditioning but CIS occurred only on day 5 after conditioning. It was further found that some nuclei of hypothalamus, paraventricular nucleus (PVN) in particular, showed high expression of FOS-protein on the fifth day after one re-exposure to CS, but there was no or little expression of FOS-protein on the thirtieth day. By comparing the results of the fifth day with the thirtieth day, it is suggested that PVN of the hypothalamus is an important nuclear for modulating the response of CIS in the CNS.

Key words conditioned immunosuppression, hypothalamus nuclei, c-fos.