

不同应激范式对大鼠行为和脑神经颗粒素含量的影响*

李欢欢¹ 林文娟¹ 李俊发²

(¹中国科学院心理研究所脑-行为中心,北京 100101) (²首都医科大学神经生物学教研室,北京 100054)

摘要 为探讨慢性情绪应激、生理应激对大鼠旷场行为和脑神经颗粒素 (Neurogranin, NG)含量的不同作用,以及 NG含量变化与应激性行为效应之间的相互关系。分别以不确定性空瓶刺激和饮水剥夺,建立情绪应激和生理应激动物模型。将 40只雄性 SD大鼠随机分为情绪应激组 (ES)、生理应激组 (PS)、定时饮水组 (C1)和正常对照组 (C2) ($n = 10$)。以旷场行为任务来评定大鼠应激后的行为变化,Western blotting方法测定海马和前脑皮层中的 NG含量。结果表明:应激后四组大鼠海马的 NG含量差异无显著性;ES组前脑皮层的 NG含量低于 C2组,差异具有显著性, $p < 0.01$;PS组的前脑皮层 NG含量也下降,但与 C2组相比差异无显著性;应激后 ES组、PS组修饰行为多于 C2组,差异具有显著性,分别为 $p < 0.01$, $p < 0.05$;前脑皮层 NG含量与修饰行为之间的相关达显著水平。提示慢性情绪和生理应激均能导致前脑皮层 NG含量下降,修饰行为增加,情绪应激作用更显著。修饰行为可能是反映情绪状态的较敏感行为指标,前脑皮层 NG水平可能是预测情绪应激所致焦虑或抑郁行为的较敏感生物学指标。

关键词 情绪应激,生理应激,海马,前脑,行为,神经颗粒素。

分类号 B845

1 前言

应激能导致动物的情绪和行为障碍,并且其表现随着应激源性质的变化而变化。生理应激和情绪应激能对动物的旷场行为产生相反的影响,生理应激减少动物在旷场中的水平活动和探究行为,情绪应激则引起动物的上述行为增加^[1]。此外,不同的情绪应激源诱发的动物行为也不同,如电击信号应激能诱发动物明显的恐惧和抑郁行为;而不确定空瓶应激则诱发动物明显的攻击性行为^[2]。这些研究结果提示,不同的应激源对行为影响的不一致性可能与应激引起的脑机制变化有关。

迄今有关应激引起行为改变的脑机制,包括所涉及物质基础,作用途径和信号传导方式所知甚少。神经颗粒素 (Neurogranin, NG)是一种突触后蛋白激酶 C (PKC)的底物,是 Ca^{2+} 敏感性的钙调蛋白结合蛋白^[3]。NG在与应激和行为密切相关的脑区特别是海马和前脑皮层中含量丰富^[3,4],它在应激、学习记忆和行为中的作用现已逐渐受到关注。作为一种新发现的脑内涉及应激反应的物质分子,

它可能与不同应激引起不同行为的脑机制有关。但是,国外关于 NG与应激关系的研究并不多,尤其是它在慢性应激过程中的变化。为此,本研究将考察慢性生理性和情绪性应激对脑 NG含量的影响及应激后大鼠的行为与 NG含量变化的关系。在应激模型的选择上,采用本实验室建立的不确定性空瓶饮水应激模型^[5]。以往大多数研究所采用的情绪应激源均掺杂生理因素的影响,不容易将生理因素从情绪对机体的影响作用中分离出去。而本实验室建立的应激模型是相对“纯粹”的情绪应激动物模型。通过饮水剥夺和不确定性空瓶饮水刺激分别诱发大鼠的生理和情绪应激,进而考察不同应激类型对海马和前脑皮层的 NG含量的变化以及应激后大鼠的旷场行为与海马和前脑皮层的 NG含量的变化关系,以期为不同应激源诱发行为效应差异的相关脑机制做一些探索。

2 材料和方法

2.1 实验动物及分组

实验选用雄性 Sprague-Dawley大鼠 40只,购自

收稿日期:2005-06-08

*中国科学院创新工程 (KSCX2-2-03)和国家自然科学基金 (30370482)资助项目。

通讯作者:林文娟, E-mail: Linwj@psych.ac.cn, 电话:010-64863723

第一作者现为中山大学教育学院心理学系讲师。

维通利华实验动物中心,体重 250g以上,单笼喂养。在实验室中经过适应期 7天,光暗周期为 12h/12h (光照时间 08:00~20:00),室内温度为 (22 ± 0.5),湿度为 50%左右。适应期内所有动物自由摄食和饮水,每天接受 3min 抚摸。

大鼠随机分为四组:情绪应激组 (Emotional Stress, ES)、生理应激组 (Physical Stress, PS)、定时饮水组 (C1)和正常对照组 (C2),每组为 10只。

2.2 应激程序

经 1周适应期后,对 ES组、PS组和 C1组动物进行定时喂水训练 10天。定时喂水训练为每日 2

次,即每天早 9:00~9:10和晚 21:00~21:10给动物饮水,之后撤掉水瓶,其余时间不给水。定时喂水期结束后开始应激实验,ES组动物在定时喂水时间内给予的空瓶刺激诱发其情绪应激,刺激的给予是无规律的,但维持一天一次;PS组动物在 ES组接受空瓶刺激的同时亦无水喝,但无空瓶刺激;C1组动物则一直定时饮水,应激共持续两周。C2组不接受任何处理,在笼中饲养,自由饮水和摄食。所有动物在适应期末、定时喂水期末、应激第 7天和应激第 14天共称四次体重以考察应激的程度。实验程序见表 1。

表 1 实验程序 (天)

组别	Time	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
ES	9:00 - 9:10	N	N	ES	N	ES	ES	N	ES	N	N	ES	N	N	ES	ES
	21:00 - 21:10	ES	ES	N	ES	N	N	ES	N	ES	ES	N	ES	ES	N	
PS	9:00 - 9:10	N	N	PS	N	PS	PS	N	PS	N	N	PS	N	N	PS	PS
	21:00 - 21:10	PS	PS	N	PS	N	N	PS	N	PS	PS	N	PS	PS	N	
C1	9:00 - 9:10	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	21:00 - 21:10	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N

注:N:给水;ES:空瓶刺激;PS:无水,亦无空瓶刺激

2.3 仪器和试剂

第一抗体抗 NG总蛋白多克隆抗体、 α -Actin 单克隆抗体、第二抗体辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG抗体、山羊抗鼠 IgG抗体、BCA (bicinchoninic acid)蛋白检测试剂盒、buffer(全细胞裂解液)、硝酸纤维素膜 (Nitrocellulose filter, NC)均为 Sigma 公司产品,增强型化学发光系统 (ECL)试剂盒购自美国 Pierce公司。Gel Doc凝胶成像半定量分析系统购自 Bio-Rad公司。

2.4 旷场测试

每只动物在适应期末和应激期末共进行两次旷场测试。测试时,将动物置于高 50cm、直径 180cm、周边和底面均为黑色的圆形旷场中,光照度为 60 lux,室内隔音。观察者在行为实验室内用摄像系统记录动物在旷场内 5min 的行为表现,包括水平活动距离、直立、修饰、探究、呆滞和排便量。其中水平活动距离和探究通过行为跟踪分析系统获得数据,直立、呆滞、修饰行为是根据行为摄像仪统计发生的次数。每只动物的排便量是以旷场测试结束后排便的颗粒数来表示。

2.5 海马和前脑皮层 NG含量的测定

应激实验结束后次日,对四组大鼠进行行为测试后,立即快速断头处死所有大鼠,剥离海马和相同

体积的前脑皮层组织,并将组织迅速用液氮冷却。

采用 Western blotting技术测定大鼠海马和前脑皮层的 NG含量。将组织加入 buffer匀浆。匀浆后加入 BCA液摇匀,在 37℃ 水浴箱中温育 30min,通过蛋白质分光光度计进行样品海马和前脑皮层总蛋白质的初步定量,根据样品总蛋白含量计算出每一样品跑电泳所需加入的缓冲液量。匀浆中加入样品缓冲液,走 15%的聚丙烯酰胺凝胶电泳,转移至 NC膜,NC膜以封闭液 (10%脱脂奶粉,溶于 TBS)室温封闭 1h,用 Tris/Tween 缓冲盐水 (Tris buffered Tween - 20 saline, TBS)洗膜,10min ×3次。加入抗 NG总蛋白多克隆抗体室温孵育 3小时,再用 TTBS洗膜,10min ×3次。TBS液稀释山羊抗兔 IgG抗体 (1:4000)孵育,室温,振荡 1h,同样洗膜 3次。加入 ECL 荧光标记,以胶片曝光显迹。之后,对同一张 NC膜上的内参蛋白 α -Actin进行杂交。通过 Gel Doc凝胶成像半定量分析系统对胶片上的 NG蛋白和 α -Actin蛋白条带进行定量。四组大鼠的海马和前脑皮层 NG含量的指标是以同一张 NC膜上的 NG含量与 α -Actin含量的比值来表示。

2.6 统计方法

本研究采用成组设计,用 SPSS 10.0软件分析,结果用平均数 ± 标准差 ($M \pm SD$)来表示。四组大

鼠的体重、海马和前脑皮层 NG 含量以及旷场行为指标之间的总体和两两比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 和事后检验 (Post-hoc test, LSD)。旷场行为指标与脑 NG 水平之间的相关分析采用 Pearson 积差相关和 Spearman 等级相关。

3 结果

3.1 体重

适应期末和定时喂水期末,四组动物的体重总体比较差异无显著性 ($p > 0.05$)。在应激第 7 天和应激第 14 天,四组动物的体重总体比较差异有显著性 ($F(3, 36) = 3.86, p < 0.05$; $F(3, 36) = 7.46, p < 0.001$)。随着应激持续,PS 组体重一直呈缓慢增长趋势,而 ES 组的体重呈先升后降的变化趋势。至应激期末,ES 组和 PS 组的体重均显著低于 C1 和 C2 组。结果见表 2。

表 2 应激前后各组大鼠体重变化的差异比较 (g, $M \pm SD$)

组别	鼠数	适应期第 7 天	定时喂水第 10 天	应激期第 7 天	应激期第 14 天
ES 组	10	273.99 \pm 27.30	325.49 \pm 28.74	363.22 \pm 34.58 [#]	356.67 \pm 41.77 ^{**##}
PS 组	10	272.31 \pm 26.26	327.73 \pm 27.67	351.92 \pm 28.32 ^{**##}	364.60 \pm 34.72 ^{**##}
C1 组	10	282.02 \pm 34.62	339.55 \pm 30.71	388.40 \pm 33.51	415.12 \pm 38.65
C2 组	10	273.55 \pm 27.84	345.50 \pm 24.35	394.79 \pm 34.26	419.57 \pm 37.15
<i>F</i>		0.23	1.17	3.86	7.46
<i>p</i>		0.88	0.34	0.02	<0.001

注: *表示与 C1 组相比, $p < 0.05$; **表示与 C1 组相比, $p < 0.01$
#表示与 C2 组相比, $p < 0.05$; ##表示与 C2 组相比, $p < 0.01$

3.2 旷场行为

应激前,四组动物在旷场测试中水平活动距离、直立次数、修饰行为、呆滞行为和排便量的比较差异无显著性 ($p > 0.05$)。

应激两周后,ES 组表现出修饰行为增加,与 C1 组和 C2 组比较,差异有显著性 (分别为 $p < 0.05$,

$p < 0.01$)。此外,除直立活动增多外,其余行为表现均呈减少的趋势;PS 组动物也表现出修饰行为较对照组增加现象,差异具有显著性 ($p < 0.05$),但程度低于 ES 组,其余行为表现亦呈减少趋势。结果详见表 3。

表 3 应激后三组大鼠旷场行为指标的比较 ($M \pm SD$)

组别	探究行为 (次数)	水平活动 (cm)	直立行为 (次数)	修饰行为 (次数)	排便量 (颗粒数)	呆滞行为 (次数)
ES 组	1.30 \pm 1.49	3604.00 \pm 820.80	15.20 \pm 5.22	1.30 \pm 0.67 ^{**##}	0.70 \pm 1.64	0.30 \pm 0.48
PS 组	2.10 \pm 1.52	3486.30 \pm 872.32	9.10 \pm 4.04	0.90 \pm 1.29 [#]	0.10 \pm 0.32	0.30 \pm 0.48
C1 组	2.80 \pm 3.16	3651.20 \pm 1433.80	11.70 \pm 5.70	0.40 \pm 0.52	2.60 \pm 4.09	0.40 \pm 0.70
C2 组	2.80 \pm 2.15	6247.30 \pm 7703.08	13.50 \pm 7.78	0.10 \pm 0.32	1.20 \pm 2.53	0.20 \pm 0.42
<i>F</i> 值	1.07	1.14	1.99	4.56	1.76	0.24
<i>p</i> 值	0.38	0.35	0.13	0.01	0.17	0.87

注: *表示与 C1 组相比, $p < 0.05$

#表示与 C2 组相比, $p < 0.05$; ##表示与 C2 组相比, $p < 0.01$

3.3 海马和前脑皮层 NG 含量

四组大鼠海马区域 NG 含量的总体比较差异无显著性 ($p > 0.05$);前脑皮层 NG 含量的总体比较差异有显著性 ($F(3, 36) = 7.57, p < 0.01$)。两两比较发现:ES 组的前脑皮层 NG 含量显著低于 C1 和 C2 组,PS 组的前脑皮层 NG 含量显著低于 C1 组,而 C1 组和 C2 组的前脑皮层 NG 含量差异无显著性。结果详见表 4。

表 4 各组大鼠海马、前脑皮层 NG 含量的比较 (Odu, $M \pm SD$)

组别	海马 NG 含量	前脑皮层 NG 含量
ES 组	1.38 \pm 0.78	1.16 \pm 0.44 ^{**##}
PS 组	1.03 \pm 0.19	2.20 \pm 1.08 [*]
C1 组	1.38 \pm 0.43	4.53 \pm 1.64
C2 组	1.46 \pm 0.51	3.06 \pm 2.36
<i>F</i>	0.96	7.57
<i>p</i>	0.43	<0.001

注: *表示与 C1 组相比, $p < 0.05$; **表示与 C1 组相比, $p < 0.01$

#表示与 C2 组相比, $p < 0.05$

3.4 旷场行为与脑 NG 含量变化的相关分析

相关分析结果显示:旷场测试中的探究行为与水平活动、直立行为之间呈显著正相关,呆滞行为与水平活动呈显著负相关,修饰行为与其余旷场行为

指标之间相关无显著性;前脑皮层的 NG 含量与修饰行为呈显著负相关,海马 NG 含量与各项旷场行为指标之间的相关均未达到统计学上的显著意义。结果见表 5。

表 5 应激后各旷场行为指标之间、以及行为与海马、皮层 NG 含量之间的相关系数矩阵

变量	探究行为	水平活动距离	直立次数	修饰行为	排便量	呆滞行为	海马 NG 含量
水平活动距离	0.31**						
直立次数	0.27*	0.46**					
修饰行为	-0.02	0.02	0.16				
排便量	-0.16	0.05	0.13	0.06			
呆滞行为	0.06	-0.26*	-0.07	0.15	-0.01		
海马 NG 含量	-0.08	0.03	0.30	-0.29	0.11	0.15	
前脑皮层 NG 含量	0.16	0.09	0.02	-0.40*	0.06	0.00	0.25

注: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

4 讨论

应激动物模型中诱发的动物行为障碍能模拟人类在应激情况下的恐惧、焦虑反应。因而,对应激性行为效应的脑机制进行研究可能会为临床上的应激相关性疾病如创伤后应激障碍、抑郁症的发病机制和治疗途径提供一些新的线索。慢性应激动物模型与急性应激动物模型相比,更具有表面效度和生态效度^[6]。本研究发现,慢性情绪应激和生理应激均能引起大鼠应激后在旷场中的活动量普遍减少,提示慢性应激条件下,动物主要表现为退缩,活动减少和抑郁。这与国内外的相关研究有一致和矛盾之处^[1,7,8],如嵇志红^[8]等的研究表明,急性应激能导致动物兴奋焦虑、活动增加,而慢性应激时动物表现出行为抑制、抑郁。Pijman 等^[1]的研究则发现情绪应激增加动物旷场中的水平活动和探究行为,生理应激则引起上述行为减少。这与本研究的结果有所不同,可能原因是:两项研究中使用的应激源和应激持续时间不同,可能造成旷场测试中的行为结果差异,而 Pijman 等的研究并未对修饰行为进行考察。本研究进一步发现,慢性情绪应激和生理应激均导致动物的修饰行为显著增加,情绪应激的作用更为明显。此外,修饰行为与旷场测试中反映动物活动量多少的其它行为指标(包括水平活动、直立和探究行为)之间的相关均无显著性,提示修饰行为可能是独立于其它行为指标的、能反映情绪的更为敏感的行为指标,应激后动物修饰行为的增加并非动物活动量增加所致,而可能是情绪状态如焦虑或抑郁的反映。国外有研究支持这一观点^[9]。

与邵枫^[2]等的研究一致,本研究在应激过程中也观察到情绪应激组动物明显的攻击行为,生理应激组则表现出较明显呆滞。但在应激后的旷场测试中却不明显——提示应激时的行为不一定与应激后的行为一致,它们有不同的含义。

以往研究表明,海马和前脑皮层是应激所涉及的关键脑结构。前脑皮层的作用甚至更为重要^[10]。由于海马具有很强的结构可塑性,在应激过程中可以建立丰富的突触代偿机制,所以虽然它对应激十分敏感,但也具有较强的修复能力。相对而言,前脑皮层在应激时的代偿能力较差^[11]。同时,人类研究也证实,前额皮质与情绪关系十分密切^[12]。本研究发现,慢性情绪应激组动物前脑皮层 NG 含量出现显著下降,慢性生理应激组的前脑皮层 NG 含量有下降趋势,但与正常对照组相比差异无显著性。此外,两组动物的海马 NG 含量变化不明显。这与 Neuner-Jehle^[13]等的研究结果一致,他们发现睡眠剥夺应激后,大鼠前脑皮层 NG 含量下降明显,而海马的 NG 含量无明显变化。可能的原因一是海马通过突触代偿,修复应激所造成结构损伤,而前脑皮层代偿能力差所致;二是前额叶可能对情绪应激比海马更为敏感,而对生理应激的敏感性较低。此外,由于中枢神经元特异性蛋白质对维持突触结构和功能,包括突触的生长、发育、代偿性变化和传递均具有十分重要的作用。所以,应激后某些中枢神经元特异性蛋白质的结构和功能发生变化,可能通过参与突触结构和功能可塑性机制的改变,涉及到应激所致行为效应的中枢机制。NG 作为一种中枢神经元特异性蛋白质,参与中枢 NR 依赖性 LTP, PKC, PKA

和 CaMK 等多种重要的蛋白信号传导途径,并在海马和前脑皮层含量丰富,与学习记忆有密切关系。NG能通过磷酸化水平的变化对中枢 NR 依赖性 LTP过程产生明显的影响。因此,在应激过程中,NG可能通过自身含量和磷酸化水平的变化来影响突触结构重塑和/或突触传递的效能,引起相应的行为改变(如学习、记忆的缺陷)^[14,15]。本研究结果也显示,前脑皮层的 NG水平与修饰行为之间的两两相关均达显著水平。提示前脑皮层的 NG蛋白水平可能是预测情绪应激所致焦虑或抑郁行为的一项较为敏感的生物学指标,它可能涉及到应激所致行为改变的中枢机制,这在以后研究中尚需进一步证实。

本研究结果表明,慢性情绪应激和生理应激能导致动物的活动量减少,修饰行为增加,以及前脑皮层 NG含量下降,而情绪应激作用更显著。修饰行为与前脑皮层的 NG水平之间呈显著负相关。提示修饰行为可能是反映动物情绪状态如焦虑或抑郁的较敏感行为指标,前脑皮层 NG水平可能是预测情绪应激所致焦虑或抑郁行为的较敏感生物学指标之一。

参 考 文 献

- Pijman F T, Herremans A H, Kieft J. Behavioural changes after different stress paradigms: prepulse inhibition increased after physical, but not emotional stress. *European neuropsychopharmacology*, 2003, 13: 369 ~ 380
- Shao F, Lin W J, Chen J H. The effects of chronic emotional stress on the behaviors of rats and its changing trend. *Chinese Journal of Behavioral Medical Science*. 2003, 12 (1): 5 ~ 7
(邵枫,林文娟等.慢性情绪应激对行为的影响及变化趋势.中国行为医学科学, 2003, 12 (1): 5 ~ 7)
- Houben M P, Lankhorst A J, van Dalen J J, et al. Pre-and postsynaptic localization of RC3/neurogranin in the adult rat spinal cord: an immunohistochemical study. *The Journal of Neuroscience Research*, 2000, 59 (6): 750 ~ 759
- Neuner-Jehle M, Denizot J P, Mallet J. Neurogranin is locally concentrated in rat cortical and hippocampal neurons. *Brain Research*, 1996, 733 (1): 149 ~ 154
- Lin W J, Wang W W, Shao F. New animal model of emotional stress: behavioral, neuroendocrine and immunological consequences. *Chinese Science Bulletin*, 2003, 48 (15): 1565 ~ 1568
- Vyas A, Mitra R, Shankaranarayana Rao B S, et al. Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons. *The Journal of Neuroscience*, 2002; 22 (15): 6810 ~ 6818
- Bowman RE, Ferguson D, Luine VN. Effects of chronic restraint stress and estradiol on open field activity, spatial memory and monoaminergic neurotransmitters in ovariectomized rats. *Neuroscience*, 2002, 113 (2): 401 ~ 410
- Ji Z, Gao W. The effect of stress on behavior and learning-memory in animals. *Journal of Dalian university*, 2002, 23 (4): 81 ~ 84
(嵇志红,高伟.应激对动物行为和学习记忆能力的影响.大连大学学报, 2002, 23 (4): 81 ~ 84)
- Ducottet C, Belzung C. Behaviour in the elevated plus-maze predicts coping after subchronic mild stress in mice. *Physiology & Behavior*, 2004, 81: 417 ~ 426
- Lupien S J, Lepage M. Stress, memory, and the hippocampus: can 't live with it, can 't live without it. *Behavioural Brain Research*, 2001, 127: 137 ~ 158
- Han T Z, Wu F M. *Neurobiology of Learning and memory*. Beijing Medical University and Peking Union Medical College Combined Press, 1st edition, 1998. 208
(韩太真,吴馥梅.学习与记忆的神经生物学.北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1998. 208)
- Lewis M D, Stieben J. Emotion regulation in the brain: conceptual issues and directions for developmental research. *Child Development*, 2004, 75 (2): 371 ~ 376
- Neuner-Jehle M, Rhyner T A, Borbely A A. Sleep deprivation differentially alters the mRNA and protein levels of neurogranin in rat brain. *Brain Research*, 1995, 685 (1 - 2): 143 ~ 153
- Angenstein F, Hirschfelder M, Staak S. Activation of metabotropic glutamate receptors increases endogenous protein kinase C substrate phosphorylation in adult hippocampal slices. *Brain Research*, 1997, 16: 44 ~ 54
- Pak J H, Huang F L, Li J. Involvement of neurogranin in the modulation of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, synaptic plasticity, and spatial learning: a study with knockout mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, 7 (21): 11232 ~ 11237

The Effects of Different Stressors on Behavior and Protein Levels of Neurogranin in Rats

Li Huanhuan¹, Lin Wenjuan¹, Li Junfa²

¹*Brain-Behavior Research Center, Institute of Psychology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China*

²*Department of neurobiology, Capital University of Medical Sciences, Beijing 100054, China*

Abstract

The aim of study was to investigate the effects of chronic emotional stress and physical stress on behavior and protein levels of neurogranin in brain, and the correlation between protein levels of neurogranin and stress-induced behavioral changes. Forty rats were randomly divided into emotional stressed group (ES), physical stressed group (PS), regular drinking group (C1) and handled-controls (C2), with ten in each. Randomly giving empty water bottles was used as emotional stressor, and physical stress is induced by water-deprivation. Behavioral changes in rats after stress were observed by open-field test, and neurogranin level of hippocampus and forebrain were determined by Western blotting. The results showed that there is no significantly difference in neurogranin levels of hippocampus among four groups. Neurogranin level of forebrain in ES was significantly lower than that in C1 and C2 groups ($p < 0.05$, $p < 0.01$; separately). Neurogranin level of forebrain in PS was significantly lower than that in C1 ($p < 0.05$). Grooming in open-field test in both ES and PS groups was more increased than that in C2 group ($p < 0.01$, $p < 0.05$; separately). Correlation is significant at 0.01 level between grooming and neurogranin level in forebrain. These results suggested that chronic emotional stress can induce more significant decrease in neurogranin levels of forebrain and increase in grooming than physical stress. Grooming may be a sensitive behavioral index, and neurogranin levels of forebrain may be an effective biological predictor for anxiety and/or depression induced by emotional stress.

Key words emotional stress, physiological stress, hippocampus, frontal cortex, behavior, neurogranin.