

不同发育阶段社会隔离对成年大鼠潜伏抑制的影响

金暎¹ 王玮文² 孟庆轩¹ 刘美¹ 邵枫^{1,*}

1. 北京大学心理学系,北京 100871; 2. 中国科学院心理所心理健康重点实验室,北京 100101;

* 通讯作者, E-mail: shaof@pku.edu.cn

摘要 观察青春期和成年早期社会隔离对不同发育阶段大鼠的潜伏抑制的影响,并进一步探讨其神经机制。实验 1: 雄性 Wistar 大鼠在 PND38-51 天被给予 2 周的社会隔离,然后分别在 PND52 天及恢复 2 周群居后的 PND66 天,即青春期和成年早期,测定潜伏抑制;实验 2: 雄性 Wistar 大鼠在 PND58-71 天被给予 2 周的社会隔离,然后分别在 PND72 天及恢复 2 周群居后的 PND86 天,测定潜伏抑制;实验 3: 利用实验 1 的社会隔离模式,然后在 PND52 天及 PND66 天测定其伏隔核的多巴胺水平。实验发现: 1) 青春期社会隔离不影响青春期大鼠的潜伏抑制及伏隔核多巴胺水平,但能诱发成年早期大鼠的潜伏抑制缺失及伏隔核内多巴胺水平的提高; 2) 成年早期的社会隔离不影响大鼠的潜伏抑制。实验结果表明: 与成年早期社会隔离相比,青春期社会隔离能诱发大鼠的潜伏抑制缺失,且此行为异常直至成年期后才表现出来,伏隔核的多巴胺可能和参与这一过程的神经机制相关。

关键词 青春期; 精神分裂症; 潜伏抑制; 多巴胺; 伏隔核

中图分类号 B845

Effects of Pubertal and Adult Social Isolation on the Latent Inhibition of Rats

JIN Jian¹, WANG Weiwen², MENG Qingxuan¹, LIU Mei¹, SHAO Feng^{1,*}

1. Department of Psychology, Peking University, Beijing 100871; 2. Key Lab of Mental Health, Institute of Psychology, Chinese Academy of Science, Beijing 100101; * Corresponding Author, E-mail: shaof@pku.edu.cn

Abstract The present study investigated the effects of pubertal and adult social isolation on latent inhibition of rats and explored its dopamine substrate. In experiment 1, Wistar male rats were given 14 days isolated rearing during their puberty (PND38-51), then latent inhibition (LI) was tested in both adolescent and young adult rats, the results show that social isolation during peri-puberty impaired LI of young adult rats, but left LI of adolescent rats intact; In experiment 2, Wistar male rats were given 14 days isolated rearing during their puberty (PND58-71), then LI was tested at PND72 and PND86, the results show that social isolation during adult period did not affect LI of rats; In experiment 3, after the same isolation treatment like experiment 1, dopamine (DA) level in nucleus accumbens (NAc) was measured in adolescent and young adult rats, the results showed that social isolation during puberty increased the DA level of NAc in young adult rats, but not in adolescent rats. These results suggest that compared to social isolation during adult period, the expression of LI deficit induced by isolated rearing during puberty is found after a developmental delay, and DA in NAc may be involved in the neural substrate, which may mirror some aspects of the ontogeny of schizophrenic symptoms.

Key words puberty; schizophrenia; latent inhibition; dopamine (DA); nucleus accumbens (NAc)

精神分裂症是一种严重而复杂的精神疾病, 人群发病率高达 1%。如何建立精神分裂症认知障碍的动物模型对于了解精神分裂症的病因学机制、抗精神分裂症药物的作用机理以及新药开发都具有非常重要的意义。而建立精神分裂症动物模型的一个关键问题是如何通过动物行为的活动来反映精神分裂症的认知障碍^[1]。

潜伏抑制(latent inhibition, LI) 是一种活跃的现象, 它指的是, 如果一个刺激被反复呈现而未被强化(前呈现), 那么这种前呈现将干扰随后的涉及该刺激的学习任务^[2]。研究证实, LI 现象可见于各种经典和操作式条件反射如被动和主动回避, 条件反射性情情绪反应, 味觉厌恶, 线索辨别学习等, 而且 LI 现象也广泛地存在于包括人类在内的多种哺乳类动物^[3]。自 Baruch 等^[4]首次报告了精神分裂症病人中 LI 缺失的现象以来, 大量的临床研究支持了这一结果^[5,6]。动物实验也表明, 安非他明能诱发大鼠的 LI 缺失, 而抗精神病药物能逆转这一影响^[3]。这些研究结果表明, 精神分裂症病人所表现出的 LI 异常可以作为一种稳定的特征性表现, 而且是一种跨种系的、可以在行为水平上表达的认知障碍模式。此外, 与精神分裂症相类似, LI 的主要神经机制也涉及中脑边缘多巴胺环路, 其中伏隔核(Nucleus Accumbens, NAc) 是 LI 表达的关键性脑结构^[7]。因此, 研究 LI 异常与精神分裂症之间的关系将很有可能揭示出精神分裂症这一严重精神疾病的某些神经生物学和心理学机理。

如何建立精神分裂症的 LI 异常动物模型? 已知社会隔离是一种常用的精神分裂症神经发育动物模型的建模方式。一般而言, 社会隔离指的是断乳至成年期的隔离, 目前尚缺乏某一特定发育阶段社会隔离对动物认知功能影响的研究报道。那么不同发育阶段的社会隔离是否对动物认知功能产生不同的影响? 以青春期为例, 最近的研究表明, 青春期是神经发育的关键性阶段, 青春期阶段的脑发育对于成年阶段脑功能的正常发挥起重要作用, 干扰这一发育过程可能导致继发的精神相关疾病^[8,9]。对于啮齿类动物而言, 根据其体内雄性激素水平, 雄性大鼠的青春期是在出生后 35~50 天左右, 性成熟在 58 天左右^[10]。本研究以雄性大鼠为实验对象, 分别观察了青春期(出生后 38~51 天) 和成年早期(出生后 58~71 天) 的社会隔离对动物 LI 的影响, 并进一步探讨其多巴胺(dopamine, DA) 机制。

1 材料与方法

1.1 实验 1 与实验 2

1.1.1 实验动物及分组

鼠龄 35 天(Post Natal Day, PND35) 的雄性 Wistar 大鼠 160 只, 体重 120 g 左右, 购于中国人民解放军军事医学科学院动物中心。所有动物在北京大学实验动物中心的 SPF 级动物实验室内饲养, 控制室温(20±3℃) 和照明(12 小时照明/12 小时黑暗, 每天早 07 时开始照明)。实验期间所有动物自由饮食、水、饲料由军事医学科学院动物中心提供。动物到达实验室 3 天后(即 PND38) 开始实验。实验动物分组如表 1 所示。正常群居饲养为 4 只/笼, 隔离饲养为 1 只/笼。

表 1 实验动物分组
Table 1 Grouping of subjects

实验	分组	动物数 组(只)	实验处理	LI 测定时间
实验 1	SOG-52	20	群居(PND38-51)	PND52
	ISO-52	20	隔离(PND38-51)	PND52
	SOG-66	20	群居(PND38-65)	PND66
	ISO-66	20	隔离(PND38-51) 群居(PND52-65)	PND66
实验 2	SOG-72	20	群居(PND58-71)	PND72
	ISO-72	20	隔离(PND58-71)	PND72
	SOG-86	20	群居(PND558-84)	PND86
	ISO-86	20	隔离(PND58-71) 群居(PND72-85)	PND86

1.1.2 行为检测

LI 测定是利用大鼠穿梭程序自动控制仪, 观察声音刺激的前呈现对声音刺激-电击条件化联合反应的影响。如果前呈现能降低条件化联结反应, 则存在 LI 现象, 反之则 LI 缺失。行为测定时间是在 08:00—16:00。

DCS-2 大鼠穿梭程序自动控制仪由中国医学科学院药物研究所提供^[11]。该装置由两部分组成: 穿梭箱和软件系统。穿梭箱由透明的树脂玻璃制成, 外形尺寸为 64 cm×34 cm×24 cm。顶端中央装有蜂鸣器(70 dB, 提供声音条件刺激), 底部为电栅(足底电击-非条件刺激, 0.2~0.4 mA), 两对光电管分别位于箱体左右两端、电栅上方 1 cm 处。软件系统完成实验程序的设置、执行、信号采集、数据结果显示等工作。实验任务中的蜂鸣时间、电刺时间、间歇时间、循环次数可由计算机任意设定。刺激电流可以调节。

LI 测定: 每组动物被随机分成前呈现组(pre-exposure, PE) 和非前呈现组(non pre-exposed, NPE)。

1) 前呈现(pre-exposure) 阶段。将 PE 组大鼠置于穿梭箱内, 给予声音刺激(70 dB), 声音持续时间 6 s, 间隙 14 s, 循环 90 次, 共 30 min。NPE 组大鼠也被置于穿梭箱内, 但不给予任何刺激, 放置 30 min。

2) 条件化学习阶段。每只动物结束第一阶段后, 立刻进入条件化学习阶段。首先呈现 3 s 的声音刺激, 然后是 15 s 的足底电击, 强度为 0. 2~ 0. 4 mA。在声音与电击刺激的结合过程中, 如果动物发生穿梭性跑动而触动光电管, 则电击停止, 10 s 后进入下一次训练, 共训练 90 次, 每 10 次为一个循环, 共 9 个循环。如果动物在声音呈现阶段完成穿梭, 成功地躲避了随后的电击, 则记为主动逃避或条件化反应; 而如果动物在电击给予后才出现逃避反应, 则为被动逃避反应或非条件化反应。本研究主要测量的指标是条件化反应次数。

1. 2 实验 3

1. 2. 1 实验动物及分组

雄性 Wistar 大鼠 48 只。鼠龄、饲养条件及分组($n = 12$ /组) 同实验 1。但无行为学测定。

1. 2. 2 伏隔核 DA 含量测定

SOG-52 和 ISO- 52 组动物在 PND52 天, SOG- 66 和 ISO- 66 组动物在 PND66 天, 被断头后立即取脑置于液氮中 10 s。然后利用冰冻切片机, 依据 Paxinos 等^[12] 的大鼠脑图谱, 取双侧伏隔核。利用高效液相方法测定伏隔核的 DA 水平^[13]。

所有实验程序已通过北京大学动物管理和使用委员会(IACUC) 审核和批准。

1. 3 统计方法

实验结果的所有数值以平均数 \pm SEM 表示。组间数据比较应用 SPSS 统计软件, 使用组间 t 检验比较组间差异。

2 结果

2. 1 青春期隔离对青春期和成年早期动物 LI 的影响

首先如图 1 和 2 所示, 正常群居的青春期(SOG- 52 组) 和成年早期(SOG- 66 组) 大鼠均存在 LI 现象, 即前呈现组动物(PE) 的条件化反应次数显著地低于非前呈现组(NPE) (SOG- 52 组, PE: $19. 1 \pm 4. 3$, NPE: $30. 2 \pm 6. 1$, $t = 2. 482$, $P = 0. 019$; SOG- 66 组, PE: $20. 1 \pm 3$, NPE: $33. 0 \pm 3. 9$, $t = 2. 36$, $p < 0. 05$)。

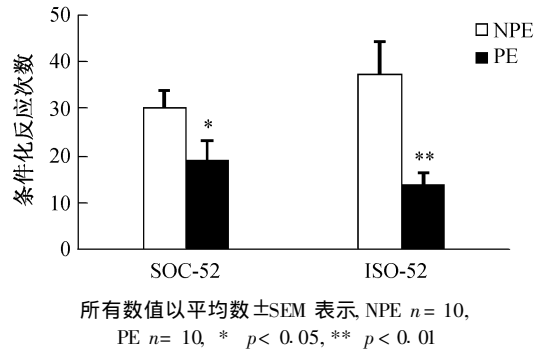


图 1 青春期隔离对青春期大鼠 LI 的影响
Fig 1 Effects of puberty isolation on latent inhibition in puberty rats

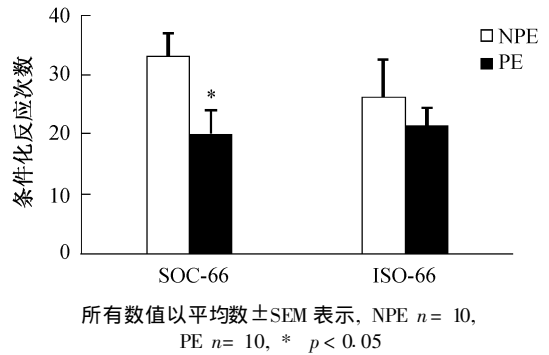


图 2 青春期隔离对成年早期大鼠 LI 的影响
Fig 2 Effects of puberty isolation on latent inhibition in young adult rats

其次, 隔离的青春期动物(ISO- 52 组) 仍表现出明显的 LI 现象(ISO- 52 组, PE: $13. 8 \pm 2. 6$, NPE: $37. 4 \pm 6. 8$, $t = 3. 222$, $p < 0. 01$), 但隔离的成年早期的大鼠(ISO- 66 组) 则表现出 LI 缺失(ISO- 66 组, PE: $21. 5 \pm 2. 8$, NPE: $26. 2 \pm 6. 2$, $t = 0. 652$, $p = 0. 821$)。

2. 2 成年期社会隔离对动物 LI 的影响

如表 2 所示, 无论是隔离后立即测定还是又恢复群居后测定, 成年阶段 2 周的社会隔离对动物 LI 均没有影响。

表 2 成年期社会隔离对动物 LI 的影响
Table 2 Effects of adulthood isolation on latent inhibition in young adult rats

组别	NPE	PE	p 值
SOG-72	28.78 \pm 3.83	17.44 \pm 2.83	0.030
ISO-72	42.13 \pm 5.31	30.71 \pm 2.55	0.047
SOG-86	31.87 \pm 3.87	20.40 \pm 2.56	0.020
ISO-86	30.17 \pm 5.74	17.29 \pm 2.29	0.044

2.3 青春期隔离对青春期和成年早期动物 NAc 内 DA 的影响

如图 3 所示, 与正常群居的成年早期大鼠相比, 青春期社会隔离的成年早期大鼠表现出 NAc 内 DA 水平的显著增高 (DA 含量, 群居组: 0.44 ± 0.068 ng/mg, 隔离组: 1.09 ± 0.22 ng/mg, $t = 2.587$, $p < 0.05$), 但两组青春期大鼠的 NAc 内 DA 水平则无显著性差异 (DA 含量, 隔离组: 0.22 ± 0.049 ng/mg, 群居组: 0.33 ± 0.069 ng/mg, $t = 1.415$, $p = 0.173$)。

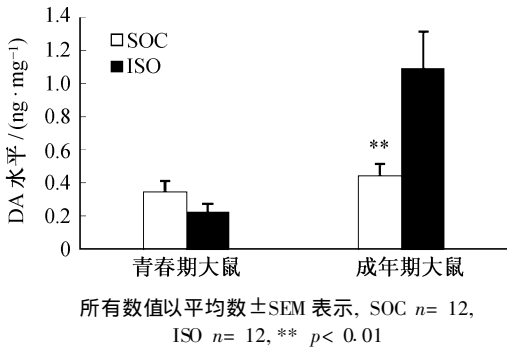


图 3 青春期隔离对青春期大鼠和成年早期大鼠 NAc 内 DA 水平的影响

Fig. 3 Effects of puberty social isolation on DA in NAc in puberty and young adult rats

3 讨论

本研究主要探讨不同发育阶段的社会隔离对大鼠 LI 的影响及其多巴胺机制。本实验结果表明, 青春期社会隔离不影响青春期大鼠的 LI, 但能够诱发成年早期大鼠的 LI 缺失; 与此行为结果一致, 青春期 2 周的社会隔离能引起成年早期大鼠 NAc 的 DA 水平增高, 但不影响青春期大鼠 NAc 的 DA 水平。与青春期社会隔离相比, 无论是隔离后立即测定还是又恢复群居 2 周后测定, 成年阶段 2 周的社会隔离对动物 LI 均没有影响 (可排除恢复的群居生活即 social regrouping 对动物行为的影响)。

首先, 青春期 2 周的隔离饲养能诱发大鼠的 LI 缺失。已知青春期神经系统发育成熟的关键阶段。在这段时期, 大鼠的边缘系统^[14]和脑神经递质系统 (如多巴胺系统、谷氨酸系统)^[15]发育成熟、神经髓鞘最终形成与神经突触成熟^[16]。因此这一“特殊”阶段可能对外界环境变化的易感性增加。本研究结果提示, 这阶段的饲养环境改变如两周的社会隔离能诱发出大鼠的认知行为缺陷如 LI 缺失。而更重要的是, 本研究结果表明, 由青春期社会隔离诱发的

LI 缺失直至成年阶段才表现出来, 这与精神分裂症神经发育假说一致。精神分裂症神经发育动物模型认为, 精神分裂症患者的脑发育和结构异常可在成年期以前就已经存在, 但并不表现出来, 直至神经系统发育完全即成年期才出现精神分裂症的症状, 而且青春期阶段的负性事件会增加成年阶段出现临床症状的可能性。这一结果与 Schwabe 等^[17]的研究结果相类似, 青春期 (出生后 42~48 天) 的 NMDA 受体拮抗剂 PCP 注射能引起成年大鼠的社会行为缺失以及活动性下降。此外其他精神分裂症神经发育动物模型 (如母鼠妊娠第 9 天的 poly I:C 注射^[18], 仔鼠的母婴分离^[19], 新生期大鼠的腹侧海马损毁^[20]等) 也能诱发青春期后 LI 表达缺失。而本研究则首次发现青春期 2 周的社会隔离所诱发的 LI 缺失也出现在成年期, 这进一步证实了精神分裂症的神经发育理论并扩展了已有的精神分裂症神经发展动物模型。

其次, 与成年早期 LI 缺失的行为结果相一致, 本研究发现青春期隔离能引起成年早期大鼠的伏隔核 DA 水平增高, 但不影响青春期大鼠。LI 神经机制的研究表明, 伏隔核内 DA 传递是 LI 表达和调节的主要神经机制^[21-22]。如研究发现, 伏隔核内的 DA 激动剂注射可以引起 LI 缺失, 相反伏隔核内的 DA 拮抗剂 6-羟基多巴胺 (6-OHDA) 注射可逆转由 DA 激动剂安非他明注射所引起的 (amphetamine) LI 缺失^[23]。因此本研究结果提示, 伏隔核内 DA 系统可能与青春期社会隔离所诱发的成年早期动物 LI 缺失的神经机制相关。

综合以上实验结果, 本研究发现, 青春期 2 周的社会隔离能诱发成年早期大鼠的 LI 缺失, 伏隔核内 DA 水平可能与此相关。这一发现符合精神分裂症的神经发育理论, 并扩展了精神分裂症的神经发展动物模型, 但其具体的神经机制有待于进一步探讨。已知前额叶皮层下行通路对中脑边缘 DA 系统有调控作用, 并与 LI 神经机制密切相关, 因此平行考察相互之间存在神经联系的多脑区的 DA 活动水平将是下一步工作的重点内容。

参考文献

- [1] Li Liang, Shao Feng. Impaired auditory sensorimotor gating: An animal model of schizophrenia. Chinese Science Bulletin, 2003, 48(19): 2031-2037
- [2] Moser P C, Hitchcock J M, Lister S, et al. The

- pharmacology of latent inhibition as an animal model of schizophrenia. *Brain Research Review*, 2000, 33(2-3): 275-307
- [3] Lubow R E. Construct validity of the animal latent inhibition model of selective attention deficits in schizophrenia. *Schizophrenic Bulletin*, 2005, 31(1): 139-153
- [4] Banach I, Hemsley D R, Gray J A. Differential performance of acute and chronic schizophrenics in a latent inhibition task. *Journal of Nervous and Mental Disorder*, 1988, 176(10): 598-606
- [5] Schmajuk N. Brain-behaviour relationships in latent inhibition: A computational model. *Neuroscience Biobehavior Review*, 2005, 29(6): 1001-1020
- [6] Lubow R E, Kaplan O. The visual search analogue of latent inhibition: Implications for theories of irrelevant stimulus processing in normal and schizophrenic groups. *Psychonomic Bulletin & Review*, 2005, 12(2): 224-243
- [7] Young A M J, Moran P M, Joseph M H. The role of dopamine in conditioning and latent inhibition: What, when, where and how? *Neuroscience and Biobehavior Review*, 2005, 29(6): 963-976
- [8] Schneider M, Koch M. Deficient social and play behavior in juvenile and adult rats after neonatal cortical lesion: Effects of chronic pubertal cannabinoid treatment. *Neuropsychopharmacology*, 2005, 30(5): 944-957
- [9] Rasmussen B A, O'Neil J, Manaye K F, et al. Long-term effects of developmental PCP administration on sensorimotor gating in male and female rats. *Psychopharmacology*, 2007, 190(1): 43-49
- [10] Le Pen G, Gourevitch R, Hazane F, et al. Peri-pubertal maturation after developmental disturbance: A model for psychosis onset in the rat. *Neuroscience*, 2006, 143(2): 395-405
- [11] 刘美, 王玮文, 邵枫. 不同种系大鼠潜伏抑制模型的建立与评价. *中国行为医学科学*, 2007, 16(7): 577-579
- [12] Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Sydney: Academic Press, 1998
- [13] Malkesman O, Shayit M, Genuit R, et al. Dehydroepiandrosterone in the nucleus accumbens is associated with early onset of depressive-like behavior: A study in an animal model of childhood depression. *Neuroscience*, 2007, 149(3): 573-581
- [14] Spear L P. The pubertal brain and age-related behavioral manifestations. *Neuroscience & Biobehavior Review*, 2000, 24(4): 417-463
- [15] Boyce P J, Finlay J M. Neonatal depletion of cortical dopamine: Effects on dopamine turnover and motor behavior in juvenile and adult rats. *Developmental Brain Research*, 2005, 156(2): 167-175
- [16] De Bellis M D, Keshavan M S, Beers S R, et al. Sex differences in brain maturation during childhood and adolescence. *Cerebral Cortex*, 2001, 11(6): 552-557
- [17] Schwabe K, Klein S, Koch M. Behavioural effects of neonatal lesions of the medial prefrontal cortex and subchronic pubertal treatment with phencyclidine of adult rats. *Behavior Brain Research*, 2006, 168(1): 150-160
- [18] Meyer U, Feldon J, Schedlowski M, et al. Towards an immune-precipitated neurodevelopmental animal model of schizophrenia. *Neuroscience & Biobehavior Review*, 2005, 29(6): 913-947
- [19] Ellenbroek B A, Riva M A. Early maternal deprivation as an animal model for schizophrenia. *Clinical Neuroscience Research*, 2003, 3(5): 297-302
- [20] Grecksch G, Bemstein H G, Becker A, et al. Disruption of latent inhibition in rats with postnatal hippocampal lesions. *Neuropsychopharmacology*, 1999, 20(6): 525-532
- [21] Weiner I, Feldon J. The switching model of latent inhibition: An update of neural substrates. *Behavior Brain Research*, 1997, 88(1): 11-25
- [22] Schiller D, Weiner I. Lesions to the basolateral amygdala and the orbitofrontal cortex but not to the medial prefrontal cortex produce an abnormally persistent latent inhibition in rats. *Neuroscience*, 2004, 128(1): 15-25
- [23] Gal G, Schiller D, Weiner I. Latent inhibition is disrupted by nucleus accumbens shell lesion but is abnormally persistent following entire nucleus accumbens lesion: The neural site controlling the expression and disruption of the stimulus preexposure effect. *Behavior Brain Research*, 2005, 162(2): 246-255