

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.02.004

利培酮对地卓西平诱导的精神分裂症模型大鼠认知功能及海马组织中谷氨酸受体 1 水平的影响

廖世棚, 刘宸, 刘毅[△]

(湖北省武汉市武东医院, 湖北 武汉 430084)

摘要:目的 探讨利培酮对地卓西平诱导的精神分裂症模型大鼠认知功能及海马组织中谷氨酸受体 1(GluR₁)水平的影响。方法 将 30 只成年雌性 SD 大鼠均分为正常对照(等体积 0.9% 氯化钠溶液)组、模型(等体积 0.9% 氯化钠溶液)组和利培酮(0.05 mg/kg)组。模型组和利培酮组大鼠给予腹腔注射地卓西平(0.60 mg/kg), 每天 1 次, 连续 4 d, 以建立精神分裂症模型。造模同时灌胃相应药物, 每天 1 次, 连续 14 d。采用 Hoffman 评分标准评价共济失调程度, 采用 Sams-Dodd 评分标准评价刻板行为; 采用 Morris 水迷宫实验评价学习记忆功能; 采用 Western Blot 法检测大鼠海马组织 GluR₁ 蛋白水平。结果 与正常对照组比较, 模型组大鼠共济失调评分和刻板行为评分明显升高, 目标象限内的游泳时间明显缩短, 游泳速度明显减缓, 海马组织中 GluR₁ 蛋白水平明显增高($P < 0.05$); 与模型组比, 利培酮组大鼠共济失调评分和刻板行为评分明显降低, 目标象限中的游泳时间明显延长, 游泳速度明显增快, 海马组织中 GluR₁ 蛋白水平明显降低($P < 0.05$)。结论 利培酮对精神分裂症模型大鼠的认知功能具有一定改善作用, 其机制可能与抑制海马组织中 GluR₁ 的表达有关。

关键词:利培酮;地卓西平;认知功能;谷氨酸受体 1;精神分裂症;大鼠

中图分类号:R965;R971⁺.41

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)02-0011-03

Effect of Risperidone on Cognitive Function and the Level of GluR₁ in Hippocampus of Dizocilpine-Induced Schizophrenic Rats

LIAO Shipeng, LIU Chen, LIU Yi

(Wuhan Wudong Hospital, Wuhan, Hubei, China 430084)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of risperidone on cognitive function and the level of glutamate receptor-1(GluR₁) in the hippocampus of dizocilpine-induced schizophrenic rats. **Methods** Totally 30 adult female SD rats were divided into the normal control group(equal volume 0.9% Sodium Chloride Injection), model group(equal volume 0.9% Sodium Chloride Injection) and risperidone group(0.05 mg/kg). Rats in the model group and risperidone group were given the intraperitoneal injection of dizoxapine(0.6 mg/kg) once a day for 4 consecutive days to establish schizophrenic models, at the same time, the rats were given corresponding drugs once a day for 14 consecutive days. Hoffman score standard was used to evaluate the degree of ataxia, Sams-Dodd score standard was used to evaluate stereotyped behavior, Morris water maze test was used to evaluate learning and memory function, and Western Blot method was used to detect the level of GluR₁ protein in the hippocampus of rats. **Results** Compared with the normal control group, the ataxia score and stereotype behavior score of the model group were significantly increased, the target quadrant swimming time was significantly shortened, the swimming speed was significantly slowed down, and the level of GluR₁ protein in hippocampus was significantly increased in the model group($P < 0.05$). Compared with the model group, the ataxia score and the stereotyped behavior score of the risperidone group were significantly lower, the target quadrant swimming time was significantly prolonged, the swimming speed was significantly speeded up, and the level of GluR₁ protein in the hippocampus was significantly decreased in the risperidone group($P < 0.05$). **Conclusion** Risperidone can improve the cognitive function of schizophrenic rats, and its mechanism may be related to the inhibition of GluR₁ expression in the hippocampus.

Key words: risperidone; dizoxapine; cognitive function; glutamate receptor-1; schizophrenia; rats

认知功能障碍是精神分裂症的主要临床表现,也是预测精神分裂症预后和评价抗精神病药物临床疗效的重要指标^[1]。经典抗精神病药物在治疗疾病的同时也会加重认知功能障碍,而利培酮是新一代抗精神病药物,在治疗精神分裂症阴性和阳性症状的同时,还能改善患者的认知功能^[2]。目前,精神分裂症的发病机制还不清楚,谷氨酸功能紊乱假说是目前研究最多的学说, α -氨

基-3-羟基-5-甲基-4-异噁唑丙酸(AMPA)受体介导中枢神经系统兴奋性突触传递,在记忆学习和长时程增强或抑制方面具有重要作用^[3]。谷氨酸受体 1(GluR₁)是 AMPA 的重要组成部分,但在海马区的分布特征还不清楚^[4]。本研究中采用地卓西平诱导大鼠产生精神分裂症,观察利培酮对其认知功能及海马组织 GluR₁ 表达水平的影响。现报道如下。

第一作者:廖世棚,男,大学本科,主管药师,研究方向为临床药学,(电子信箱)3956263@qq.com。

[△]通信作者:刘毅,男,大学本科,主任医师,研究方向为精神药理学,(电子信箱)823328636@qq.com。

1 材料与方法

1.1 材料

动物:清洁级 SD 大鼠 30 只,雌性,2 月龄,体质量 220~240 g,购自山东省医学科学院实验动物中心(动物生产许可证号:SCXK<鲁>2009-0001),适应性喂养 7 d,实验期间自由饮水、进食,控制饲养环境昼夜循环(12 h/12 h)。

仪器:Morris 水迷宫(上海吉量软件科技有限公司);蛋白电泳系统(美国 Bio-Rad 公司);5418R 低温高速离心机(德国 Eppendorf 公司)。

试剂:利培酮(西安杨森制药有限公司,国药准字 H20010309,规格为每片 1 mg);地卓西平(美国 Sigma 公司,批号为 77086-22-7,规格为 200 mg/mL,纯度为 98%);注射用戊巴比妥钠(上海新亚药业有限公司,国药准字 H31021725,批号为 1002001,规格为每支 0.1 g);兔抗鼠 Anti-GluR₁ 一抗(英国 Abcam 公司,批号为 SC-526);辣根过氧化物酶(HRP)标记抗兔 IgG 和 GADPH 二抗(武汉艾美捷科技有限公司,批号分别为 115-035-003, C1313);电光学(ECL)发光液(美国 Millipore 公司,批号为 WBLS0500,规格为每瓶 100 mL);其余试剂均为分析纯,水为纯化水。

1.2 方法

造模与分组、给药:将 30 只大鼠均分为 3 组,即正常对照组(等体积 0.9% 氯化钠溶液)、模型组(等体积 0.9% 氯化钠溶液)和利培酮组(利培酮 0.05 mg/kg)。模型组和利培酮组大鼠均给予腹腔注射地卓西平(0.60 mg/kg),每天 1 次,连续 14 d 以建立精神分裂症模型。造模同时各组大鼠灌胃相应药物,每天 1 次,连续 14 d。

大鼠共济失调程度和刻板行为评估:末次给药 30 min 后,对大鼠进行共济失调程度和刻板行为评估。参考 Hoffman 评分标准用 4 级评分法评价共济失调程度,每 10 min 评 1 次;参考 Sams-Dodd 评分标准评价刻板行为。用双盲法进行 5 级评分,取平均分进行统计;评分越高,症状越重。

Morris 水迷宫实验:给药后第 10 d,对大鼠进行水迷宫训练,以不同象限设 4 个入水点,记录大鼠爬上平台所需时间,连续进行 4 d。给药结束 1 d 后撤去平台,记录大鼠目标象限内的游泳时间,并计算游泳速度,重复 4 次,取平均值。

Western Blot 法检测 GluR₁ 蛋白水平:水迷宫实验结束 30 min,后处死大鼠,分离脑组织,取右侧海马组织适量,加入蛋白裂解液,冰上匀浆 2 h 后,4℃ 下 10 000 r/min 离心 15 min,取上清液,进行蛋白定量;电泳、切胶;孵育一抗,4℃ 下孵育过夜,回收一抗,孵育二抗,室温振摇 1 h,回收二抗,清洗 3 次,加 ECL 发光液,

显影、定影、清洗后将条带灰度值数字化。目的条带与内参条带灰度比值为目的蛋白的相对表达量。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 19.0 统计学软件分析。数据以均数 ± 标准差($\bar{X} \pm s$)表示,两组间比较行 *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 共济失调程度评分和刻板行为评分

由表 1 可知,与正常对照组比较,模型组大鼠共济失调评分和刻板行为评分明显升高($P < 0.05$);与模型组比,利培酮组大鼠共济失调程度评分和刻板行为评分明显降低($P < 0.05$)。

表 1 各组大鼠共济失调程度和刻板行为评分比较($\bar{X} \pm s$, 分, $n=10$)

组别	共济失调程度评分	刻板行为评分
正常对照组	0.42 ± 0.10	0.70 ± 0.08
模型组	2.05 ± 0.52 [#]	4.62 ± 0.73 [#]
利培酮组	1.33 ± 0.25 [*]	2.51 ± 0.42 [*]

注:与正常对照组比较,[#] $P < 0.05$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$ 。下表同。

2.2 Morris 水迷宫实验结果

由表 2 可知,与正常对照组比较,模型组大鼠目标象限内的游泳时间明显缩短,游泳速度明显减缓($P < 0.05$);与模型组比较,利培酮组大鼠目标象限内的游泳时间明显延长,平均游泳速度明显增快($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠 Morris 水迷宫实验结果比较($\bar{X} \pm s$, $n=10$)

组别	目标象限内的游泳时间(s)	游泳速度(m/s)
正常对照组	28.35 ± 3.46	0.27 ± 0.02
模型组	16.43 ± 1.73 [#]	0.17 ± 0.03 [#]
利培酮组	23.43 ± 2.54 [*]	0.23 ± 0.02 [*]

2.3 海马组织中 GluR₁ 蛋白水平

由表 3、图 1 可知,与正常对照组比较,模型组大鼠海马组织中 GluR₁ 蛋白水平明显增高($P < 0.05$);与模

表 3 各组大鼠海马中 GluR₁ 蛋白水平比较($\bar{X} \pm s$, $n=10$)

组别	GluR ₁ 蛋白水平
正常对照组	0.65 ± 0.13
模型组	1.93 ± 0.19 [#]
利培酮组	1.47 ± 0.28 [*]

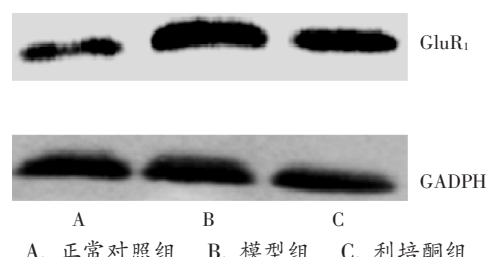


图 1 大鼠海马组织中 GluR₁ 蛋白水平表达图

型组比较,利培酮组大鼠海马组织中 GluR₁ 蛋白水平明显降低($P < 0.05$)。

3 讨论

超过 85% 的精神分裂症患者可能发生认知功能障碍,且在疾病早期就出现^[5]。精神分裂症患者生活质量的提高和社会功能的恢复需要良好的认知功能,因此,对其认知功能障碍的发病机制进行研究对于该病的治疗有重要意义。地卓西平常用于建立精神分裂症动物模型,对 *N*-甲基-*D*-天冬氨酸具有受体高亲和力非竞争性拮抗作用^[6]。目前采用 Morris 水迷宫、高架十字迷宫等实验来测定动物的认知功能, Morris 水迷宫实验主要用于测定动物的空间记忆能力,可排除动物情绪改变的干扰,尤其适用于与海马组织密切相关的认知功能的测定^[7]。本研究中采用地卓西平腹腔注射方式,成功建立了大鼠精神分裂症模型。

经典抗精神病药物如氯丙嗪、奋乃静等对精神分裂症患者的阳性症状具有良好的缓解作用,但对认知障碍症状疗效不明显,甚至会加重病情。以利培酮、氯氮平、阿立哌唑、齐哌西酮等为代表的非经典抗精神病药物已逐渐取代经典抗精神病药物。这些非经典抗精神病药物改善精神分裂症患者的阴性和阳性症状效果良好,同时可减少锥体外系反应,改善认知功能^[8]。利培酮为 5-羟色胺 2(5-HT₂)和多巴胺 2(D₂)受体拮抗剂,能改善认知功能,对精神分裂症患者的预后和结局具有重要影响^[9]。但利培酮改善精神分裂症患者认知功能的机制尚不清楚。目前研究者较认同的学说是谷氨酸功能失常学说,其核心是谷氨酸受体缺陷导致中枢神经系统兴奋-抑制失衡^[10-11]。中枢神经系统中谷氨酸受体包括 AMPA 和 NMDA 受体^[12]。AMPA 受体是由 4 种亚单位(GluR₁, GluR₂, GluR₃, GluR₄)组成的异源型 4 聚体复合物,其数量决定了神经元的兴奋程度,是突触传递的决定因素,在学习和记忆中发挥重要作用^[13]。GluR₁ 是 AMPA 受体最主要的受体,当受到长时程强刺激后,含有 GluR₁ 的 AMPA 受体最先插入到突触后膜,然后才出现持续增强的突触传递,所以 GluR₁ 与学习、记忆力密切相关^[14]。海马是学习、记忆的主要部位,海马神经元突触数量减少可引起学习、记忆力下降。精神分裂症患者海马神经元会出现排列紊乱、密度和数量减少等病理改变。研究提示, GluR₁ 表达水平的升高可抑制海马区神经元突触的传递,明显降低海马神经元的病理改变^[15]。本研究结果提示,利培酮对精神分裂症模型大鼠认知功能的改善作用可能与海马组织中 GluR₁ 蛋白水平有关。

综上所述,利培酮对精神分裂症大鼠认知功能有一定保护作用,其机制可能与抑制海马组织中 GluR₁ 的表达而改善认知功能有关。

参考文献:

- [1] 张哲,周福春,何凡,等. 首发精神分裂症患者和精神病高危者的认知功能[J]. 中国心理卫生杂志,2017,31(5):345-349.
- [2] 赵瑾,张燕,晁阳阳,等. 利培酮和奥氮平对首发精神分裂症患者治疗前后认知功能的对比观察[J]. 中华医学杂志,2016,96(37):2960-2964.
- [3] GARDINIER KM, GERNERT DL, PORTER WJ, et al. Discovery of the first α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) receptor antagonist dependent upon transmembrane AMPA receptor regulatory Protein(TARP) γ -8[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2016, 59(10):4753-4768.
- [4] 陈宇薇,赵晓华,黄鹏. 枸杞多糖对精神分裂症模型大鼠海马中 GluR₁ 表达及认知功能的影响[J]. 中国现代医学杂志,2016,26(14):17-21.
- [5] 吕望强,唐伟,蔡军,等. ANK3 基因在精神分裂症认知功能障碍发生中的作用研究[J]. 上海交通大学学报(医学版),2016,36(9):1297-1300.
- [6] HILLHOUSE TM, NEGUS SS. Effects of the noncompetitive *N*-methyl-D-aspartate receptor antagonists ketamine and MK-801 on pain-stimulated and pain-depressed behaviour in rats[J]. European Journal of Pain, 2016, 20(8):1229-1240.
- [7] 彭璇,吴刚,吴昊,等. Morris 水迷宫训练对老年痴呆大鼠模型学习记忆能力及海马组织肿瘤坏死因子- α 、超氧化物歧化酶、丙二醛水平的影响[J]. 中国老年学杂志,2017, 37(8):1833-1835.
- [8] 管欣,刘强,唐文熙,等. 基于决策树模型对我国 5 种常用非典型抗精神病药一线治疗首发精神分裂症的成本效果分析[J]. 中国新药杂志,2017,14(17):2101-2106.
- [9] 李媛媛,张云淑,王红英,等. 氯氮平片联合利培酮片治疗难治性精神分裂症安全性的系统评价[J]. 中国临床药理学杂志,2017,33(18):1813-1816.
- [10] MALKKI H. Huntington disease: New study challenges the hypothesis of glutamate transporter dysfunction in Huntington disease[J]. Nature Reviews Neurology, 2016, 12(5):101-106.
- [11] 张丹参. 记忆网络中的 *N*-甲基-*D*-天冬氨酸受体[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2017,12(5):474-475.
- [12] 张晨. 信号肽编码新信号:谷氨酸受体的空间结构信息[J]. 中国科学(生命科学),2016,46(11):1336-1339.
- [13] GAN Q, DAI J, ZHOU HX, et al. The transmembrane domain mediates tetramerization of α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) receptors[J]. Journal of Biological Chemistry, 2016, 291(115):686-696.
- [14] SMITH M, PIEHLER T, BENJAMIN R, et al. Blast waves from detonated military explosive reduce GluR₁ and synaptophysin levels in hippocampal slice cultures[J]. Experimental Neurology, 2016, 286(11):107-115.
- [15] 李利生,鲁艳柳,李映莹,等. 金钗石斛生物碱激活自噬抑制谷氨酸诱导的大鼠海马神经元轴突变性[J]. 中国新药与临床杂志,2017,13(9):530-537.

(收稿日期:2018-06-06)