

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.13.005

食欲素改善大鼠抑郁样行为及其受体机制研究*

陈艳¹,李华¹,安晓¹,叶建宁²,陈曲^{1△}

(1. 中国人民解放军陆军军医大学第一附属医院骨科医学运动中心,重庆 400038; 2. 中国人民解放军陆军军医大学第二附属医院神经内科,重庆 400030)

摘要:目的 探讨食欲素对抑郁症模型大鼠抑郁样行为的影响及其受体机制。方法 将70只健康雄性SD大鼠随机分为正常对照组(A组),模型组(B组),食欲素低、中、高剂量组(C₁组,C₂组,C₃组),食欲素+食欲素1型受体阻断剂组(D组),食欲素+食欲素2型受体阻断剂组(E组),每组10只。A组大鼠正常饲养,B组与C₁组、C₂组、C₃组、D组、E组动物孤养结合慢性应激刺激构建抑郁大鼠模型。建模成功后,C₁组、C₂组和C₃组分别侧脑室给予10,50,100 μg/kg食欲素,D组侧脑室给予100 μg/kg食欲素和15 mg/kg食欲素1型受体阻断剂,E组侧脑室给予100 μg/kg食欲素和15 mg/kg食欲素2型受体阻断剂,A组和B组给予等量生理盐水,每天1次,均连续给药1周。通过体重变化、旷场试验及糖水偏好试验检测模型大鼠抑郁样行为的变化,以及Morris水迷宫检测大鼠学习记忆功能的变化进行行为学检测。结果 与B组比较,C组大鼠体重增加、自主活动和糖水偏爱率显著增加,Morris水迷宫中的学习记忆能力显著改善($P < 0.05$),且具有浓度依赖性;D组大鼠给予食欲素1型受体阻断剂后,食欲素不能改善模型大鼠的抑郁样行为及学习记忆能力($P > 0.05$);但E组大鼠给予食欲素2型受体阻断剂后,食欲素仍能改善抑郁样行为和学习记忆能力($P < 0.05$)。结论 食欲素可能通过激活1型受体改善抑郁模型大鼠的抑郁样行为和学习记忆能力。

关键词:食欲素;抑郁样行为;学习记忆能力;食欲素1型受体;食欲素2型受体;大鼠

中图分类号:R965;R971⁺.43

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2020)13-0018-03

Orexin Improves Depression-Like Behavior and Its Receptor Mechanisms in Rats

CHEN Yan¹, LI Hua¹, AN Xiao¹, YE Jianning², CHEN Qu¹

(1. Department of Orthopedic Sports Medical Center, The First Affiliated Hospital of Army Medical University, Chongqing, China 400038; 2. Department of Neurobiology, The Second Affiliated Hospital of Army Medical University, Chongqing, China 400030)

Abstract: Objective To explore the effect of orexin on depression-like behaviors and its receptor mechanism in depression model rats. **Methods** A total of 70 healthy male SD rats were randomly divided into normal control group (group A), model group (group B), experimental group of low orexin (Group C₁), medium orexin (group C₂), high orexin (Group C₃), experimental group of orexin + orexin 1 receptor blocker (Group D), experimental group of orexin + orexin 2 receptor blocker (Group E), 10 rats in each group. The rats in the control group were fed normally, while the rats in the model group and the experimental group were fed alone and stimulated by chronic stress. After the depression model was established, 10, 50 and 100 μg/kg orexin were given to the lateral ventricles of groups C₁, C₂ and C₃ respectively, 100 μg/kg orexin and 15 mg/kg orexin type 1 receptor blocker were given to the lateral ventricles of group D, 100 μg/kg orexin and 15 mg/kg orexin type 2 receptor blocker were given to the lateral ventricles of group E, and the same amount of normal saline was given to groups A and B once a day for one week. The changes in depression-like behaviors were detected by weight change, open field test and sugar water preference test, and the changes in learning and memory function were detected by Morris water maze. **Results** Compared with group B, the rats' weight gain, independent activity in open field experiment and sugar water preference rate increased, and the learning and memory ability in Morris water maze improved in group C ($P < 0.05$), which was concentration-dependent. After orexin 1 receptor blocker was given, orexin could not improve the depression-like behaviors and learning and memory ability of model rats in group D ($P > 0.05$). On the contrary, after administration of orexin 2 receptor blocker, orexin can still improve depression-like behaviors and learning and memory ability of model rats in group E ($P < 0.05$). **Conclusion** Orexin can improve the depression-like behaviors and learning and memory ability of model rats by activating type 1 receptor.

Key words: orexin; depression-like behaviors; learning and memory ability; orexin-1 receptor; orexin-2 receptor; rats

抑郁症是以显著而持久的情绪低落为主要特征的心境障碍,并伴有认知功能损害,已成为世界第四大疾病,严重影响到人们的身心健康^[1]。食欲素是由外侧下丘脑区和穹隆周区的神经元产生的一种肽类神经递质,主要通过2种G蛋白偶联受体,即食欲素1型受体

和食欲素2型受体,广泛调控多个脑区神经元的活动,与睡眠-觉醒、学习记忆、内分泌和运动高度相关^[2-4]。食欲素系统与抑郁症的发生、发展密切相关,可投射至脑内伏隔核、腹外侧被该区多巴胺系统及外侧隔核,通过兴奋这些脑区神经元,提高动物的探索动机,增强奖

*基金项目:国家自然科学基金面上项目[81571161]。

第一作者:陈艳,女,大学本科,主管护师,研究方向为康复护理,(电子信箱)chyang0915@163.com。

△通信作者:陈曲,女,大学本科,主管护师,研究方向为康复护理,(电子信箱)chenqutmmu@163.com。

赏行为^[5-6]。相反,药物抑制食欲素受体及敲除食欲素基因会引起动物动机减退^[7],且在抑郁症模型动物和抑郁症患者脑内的食欲素水平会下降^[8-11]。本研究中探讨了外源性食欲素对抑郁样行为的影响及受体机制,旨在阐明食欲素的抗抑郁作用及其受体机制。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 试药与动物

试药:食欲素(货号为1455),食欲素2型受体阻断剂TCS-OX-29(货号为3371),均购自英国Tocris公司;食欲素1型受体阻断剂SB-334867(货号为SML1530,美国Sigma-Aldrich公司)。

动物:SPF级雄性SD大鼠70只,8~12周龄,体质量200~250 g,购自陆军军医大学实验动物中心[实验大鼠合格编号为SYXK(渝)2017002],动物饲养环境温度为22~23℃,相对湿度为45%~50%,环境光线控制(8:00~20:00开灯,20:00~8:00关灯)。

1.2 动物分组、建模与给药

将70只健康雄性SD大鼠随机分为正常对照组(A组),模型组(B组),食欲素低、中、高剂量组(C₁组,C₂组,C₃组),食欲素+食欲素1型受体阻断剂组(D组);食欲素+食欲素2型受体阻断剂组(E组),每组10只。

A组大鼠正常饲养,B组与C₁组、C₂组、C₃组、D组及E组大鼠饲养于慢性应激刺激场景中(CUMS),构建抑郁症模型大鼠。主要应激包括束缚(2 h/d)、夹尾(2 h/d)、强迫游泳(30 min/d),连续应激21 d,以出现体质量减轻、探索行为减少等抑郁症状为建模成功。建模成功后,C₁组、C₂组和C₃组大鼠侧脑室分别给予10,50,100 μg/kg食欲素,D组大鼠侧脑室给予100 μg/kg食欲素和15 mg/kg食欲素1型受体阻断剂,E组大鼠侧脑室给予100 μg/kg食欲素和15 mg/kg食欲素2型受体阻断剂,A组和B组大鼠给予等量生理盐水,每日1次,均连续给药1周。

1.3 行为学检测

体质量测定:实验结束后,分别称各组大鼠体质量。

旷场试验:最后1次给药结束后2 h,各组大鼠分别进行旷场试验(上海欣软信息科技有限公司)测试。旷场为0.5 m×0.5 m×0.5 m的白色盒子。每只大鼠仅接受1次检测。将大鼠置旷场的中心区域,让其在旷场中自由探索5 min。采用视频轨迹追踪系统分析大鼠在旷场中的运动距离和站立次数。

糖水偏爱试验:首先进行适应性训练,即在测试笼两侧分别放置1瓶1%蔗糖水及1瓶纯水,动物自由饮水。适应性训练3 d,蔗糖水和纯水的位置每天互换,防止大鼠产生位置偏爱。测试前1 d,对大鼠进行禁水。每只大鼠给予1瓶蔗糖水(1%)和1瓶纯水,记录大鼠1 h总的液体消耗量与糖水消耗量。糖水偏爱率(%)=(糖水消耗量/总液体消耗量)×100%。

糖水消耗量/总液体消耗量)×100%。

学习记忆能力检测^[12]:将Morris水迷宫(上海欣软信息科技有限公司)分为4个象限,将1个逃生平台(直径10 cm)置其中1个象限,并隐藏于水下。训练时,随机将大鼠从4个入水点入水,让动物在水迷宫中探索120 s,寻找逃生平台。若在120 s内未能找到逃生平台,则引导其到逃生平台停留30 s再进行下1次训练。每组训练4个trials,每次间隔2 min,共训练3组。通过视频追踪系统记录找到逃生平台的时间,分析经过训练后第3组动物寻找平台的潜伏期。

1.4 统计学处理

采用SPSS 18.0统计学软件分析。计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示;多组间均数的比较采用one-way ANOVA分析,并采用LSD检验后进行组间比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

结果见表1。与A组相比,B组大鼠的体质量、自主活动和糖水偏爱率均显著下降($P < 0.01$),表明建模有效。与B组相比,C₂组和C₃组大鼠体质量显著升高,自主活动及糖水偏爱率均显著增加($P < 0.05$),表明食欲素能明显改善抑郁模型大鼠的抑郁样行为。与B组相比,D组大鼠体质量、自主活动及糖水偏爱率无明显差异($P > 0.05$),但E组大鼠以上指标均有显著改善($P < 0.05$),表明食欲素改善抑郁症状主要通过激活食欲素1型受体所致。与A组相比,B组大鼠的寻找逃生平台潜伏期延长($P < 0.01$),表明抑郁模型大鼠学习记忆能力受损。与B组相比,食欲素处理能显著降低抑郁模型大鼠寻找平台的潜伏期($P < 0.05$)。同时给予食欲素1型受体阻断剂与食欲素后,与B组相比,大鼠寻找平台的潜伏期无明显差异($P > 0.05$)。同时给予食欲素2型受体阻断剂和食欲素后,与B组相比,大鼠寻找平台的潜伏期显著降低($P < 0.05$),表明食欲素通过激活其1型受体,也能改善抑郁模型大鼠的认知功能障碍。

表1 食欲素对大鼠体质量、自主活动、糖水偏爱及学习记忆能力的影响($\bar{X} \pm s, n = 10$)

组别	体质量(g)	自主活动		糖水偏爱率(%)	潜伏期(s)
		运动距离(m)	站立次数(次)		
A组	266.1±5.1	18.1±1.5	8.1±0.6	74.1±5.5	29±3
B组	210.3±6.1 [#]	13.2±0.9 [#]	5.2±0.9 [#]	52.1±4.5 [#]	47±5 [□]
C ₁ 组	225.5±10.3	15.2±0.8	6.32±0.4	65.2±6.2 [*]	39±4 [*]
C ₂ 组	251.4±3.5 [*]	16.4±1.2 [*]	6.9±0.5 [*]	66.4±3.2 [*]	35±6 [*]
C ₃ 组	258.6±6.4 ^Δ	17.8±1.2 ^Δ	7.9±0.8 [*]	75.1±5.2 ^Δ	34±5 ^Δ
D组	220.1±4.3	13.8±1.1	5.8±0.6	58.1±7.1	50±7
E组	255.2±3.4 ^Δ	17.3±1.4 ^Δ	7.6±0.4 ^Δ	73.1±4.7 ^Δ	37±4 [*]

注:与A组比较, $□ P < 0.05$,[#] $P < 0.01$;与B组比较,^{*} $P < 0.05$,^Δ $P < 0.01$ 。

3 讨论

抑郁症是临床常见的情感障碍性疾病,其主要症状为体质量下降、情绪低落、快感缺失、认知功能下降等系列症状。目前,抑郁症的发病机制尚不清楚,并缺乏有效的治疗手段^[1]。外侧下丘脑神经元分泌的食欲素系统与抑郁症的病理生理学密切相关。在抑郁症患者或抑郁症模型动物中,脑脊液中的食欲素水平较低,提示食欲素低下可能是造成抑郁症的因素之一^[18-11]。食欲素神经元可投射至中脑腹外侧被盖区,可激活该脑区的多巴胺能神经元,增加脑内的多巴胺释放,提高动物的探索动机及快感。此外,食欲素神经元可直接投射至伏隔核脑区,通过增加该核团内多巴胺 1 型受体阳性神经元的兴奋性,提高动物自主活动水平^[15-6]。在抑郁模型动物中,中脑腹外侧被盖区-伏隔核神经环路发生了可塑性变化,导致该环路的兴奋性较低。食欲素能提高抑郁模型动物糖水偏爱率及探索动机,可能的中枢机制是外源性的食欲素刺激中脑腹外侧被盖区-伏隔核神经环路所致。本研究结果显示,食欲素能显著提高抑郁模型大鼠体质量,提高糖水偏爱率及探索动机。

Morris 水迷宫试验主要检测海马依赖的空间学习记忆能力。在抑郁症患者或模型动物中海马神经元的内在兴奋性及突触传递会发生病理改变,引起空间学习记忆能力受损。在 Morris 水迷宫试验中,食欲素能降低抑郁模型动物逃避潜伏期,即能改善抑郁模型动物学习记忆障碍。海马脑区表达有食欲素受体,且已有报道表明,食欲素可调控海马突触可塑性^[13-14]。海马神经元的活动受到内侧隔区乙酰胆碱能神经元的支配,食欲素可兴奋内侧隔区乙酰胆碱能神经元^[15]。可见,食欲素可通过直接或间接方式调控海马脑区的活动,改善海马的病理损害。

食欲素有 2 种 G 蛋白偶联受体,其中 1 型受体与 Gq 偶联,细胞内激活磷脂酶(PLC)-蛋白激酶 C(PKC)信号通路,参与情绪及学习记忆的调控^[16-17];2 型受体主要与 Gs 偶联,升高细胞内的钙离子和 cAMP 水平。本研究结果显示,在食欲素 1 型受体阻断剂存在条件下,食欲素对抑郁样行为和学习记忆障碍的改善作用消失;但在其 2 型受体阻断剂存在条件下,食欲素仍能改善抑郁症状和学习记忆障碍,证明食欲素可通过激活其 1 型受体发挥效应,可为抗抑郁症药物的研发提供新依据。

参考文献:

- [1] SHEN CJ, ZHENG D, LI KX, et al. Cannabinoid CB1 receptors in the amygdalar cholecystokinin glutamatergic afferents to nucleus accumbens modulate depressive-like behavior[J]. *Nat Med*, 2019, 25(2):337-349.
- [2] PEYRON C, TIGHE DK, VAN DEN POL, et al. Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems[J]. *J Neurosci*, 1998, 18(23):9996-10015.
- [3] ADAMANTIDIS AR, ZHANG F, ARAVANIS AM, et al. Neural

substrates of awakening probed with optogenetic control of hypocretin neurons[J]. *Nature*, 2007, 450(7168):420-424.

- [4] HAGAN JJ, LESLIE RA, PATEL S, et al. Orexin A activates locus coeruleus cell firing and increases arousal in the rat[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(19):10911-10916.
- [5] MAHLER SV, SMITH RJ, ASTON-JONES G. Interactions between VTA orexin and glutamate in cue-induced reinstatement of cocaine seeking in rats[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2013, 226(4):687-698.
- [6] MEFFRE J, SICRE M, DIARRA M, et al. Orexin in the Posterior Paraventricular Thalamus Mediates Hunger-Related Signals in the Nucleus Accumbens Core[J]. *Curr Biol*, 2019, 29(19):3298-3306.
- [7] SAKURAI T, AMEMIYA A, ISHII M, et al. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior[J]. *Cell*, 1998, 92(4):573-585.
- [8] NOLLET M, LEMAN S. Role of orexin in the pathophysiology of depression: potential for pharmacological intervention[J]. *CNS Drugs*, 2013, 27(6):411-422.
- [9] SCHMIDT FM, BRUGEL M, KRATZSCH J, et al. Cerebrospinal fluid hypocretin-1 (orexin A) levels in mania compared to unipolar depression and healthy controls[J]. *Neurosci Lett*, 2010, 483(1):20-22.
- [10] FENG P, VURBIC D, WU Z, et al. Changes in brain orexin levels in a rat model of depression induced by neonatal administration of clomipramine[J]. *J Psychopharmacol*, 2008, 22(7):784-791.
- [11] ALLARD JS, TIZABI Y, SHAFFERY JP, et al. Stereological analysis of the hypothalamic hypocretin/orexin neurons in an animal model of depression[J]. *Neuropeptides*, 2004, 38(5):311-315.
- [12] HE C, LUO F, CHEN X, et al. Superficial Layer-Specific Histaminergic Modulation of Medial Entorhinal Cortex Required for Spatial Learning[J]. *Cereb Cortex*, 2016, 26(4):1590-1608.
- [13] FARAHIMANESH S, KARIMI S, HAGHPARAST A. Role of orexin-1 receptors in the dorsal hippocampus (CA1 region) in expression and extinction of the morphine-induced conditioned place preference in the rats[J]. *Peptides*, 2018, 101:25-31.
- [14] YANG L, ZOU B, XIONG X, et al. Hypocretin/orexin neurons contribute to hippocampus-dependent social memory and synaptic plasticity in mice[J]. *J Neurosci*, 2013, 33(12):5275-5284.
- [15] SMITH HR, PANG KC. Orexin-saporin lesions of the medial septum impair spatial memory[J]. *Neuroscience*, 2005, 132(2):261-271.
- [16] HARRIS GC, WIMMER M, ASTON-JONES G. A role for lateral hypothalamic orexin neurons in reward seeking[J]. *Nature*, 2005, 437(7058):556-559.
- [17] SAKURAI T. The neural circuit of orexin (hypocretin): maintaining sleep and wakefulness[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2007, 8(3):171-181.

(收稿日期:2020-02-07)