论著

文章编号:1000-5404(2007)15-1494-03

不同电休克方法对抑郁模型大鼠海马干扰素-γ受体表达的影响

李大奇,况 利,王敏建 (重庆医科大学附属第一医院心理卫生中心,重庆 400016)

提 要:目的 观察干扰素-γ受体(IFN-γR)在抑郁模型大鼠海马神经元及胶质细胞中的再生。**方法** 采用慢性轻度不可预见性的应激(chronic unpredicped mild stress, CUMS)和孤养建立大鼠抑郁模型,开场分析(open-field test)进行行为学观察。对模型大鼠行电休克(electro-convulsive treatment, ECT)及丙泊酚无抽搐电休克(modified electric convulsive therapy, MECT)疗法,免疫荧光及原位杂交方法观察海马结构中神经元和胶质细胞上IFN-γR的表达情况。**结果** 应激+ECT组、应激+MECT组与应激+假电击组比较,开场分析、免疫荧光及原位杂交实验均有显著差异。**结论** MECT治疗和ECT治疗均能减少抑郁模型大鼠海马神经元及胶质细胞上IFN-γR的表达,细胞因子(cytokine, CK)可能参与抑郁症的病理机制,MECT治疗疗效可能较ECT治疗为优。

关键词:抑郁症;海马;电休克;干扰素-γ

中图法分类号:R454.1;R714.02;R749.4 **文献标识码**:A

Effects of electroshock on interferon gamma receptor expression in hippocampus of depressed rats

LI Da-qi, KUANG Li, WANG Min-jian (Center of Mental Health, The First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To observe the expression of interferon gamma receptor on neuron and astrocyte of the hippocampus of depressed rats. Methods The depressed rats were produced by separation raise and unpredictable mild stressors. Their behaviors were evaluated in open-field test. The rats underwent electro-convulsive treatment (ECT) or modified electric convulsive therapy (MECT). The expression of interferon gamma receptor on neuron and astrocyte of the hippocampus was detected by immunofluorescence and in situ hybridization. Results There were significant differences among the stress plus ECT group, the stress plus MECT group, the stress plus sham electroshock group in all the three tests. Conclusion ECT and MECT can both reduce the expression of interferon gamma receptor on neuron and astrocyte of the hippocampus of depressed rats, and MECT shows more stronger therapeutic effect. Cytokine may play an important role in the pathophysiologic mechanism of depression.

Key words: depression; hippocampus; electroshock; interferon gamma

近年来,丙泊酚无抽搐电休克(modified electric convulsive therapy, MECT)在抑郁症临床上应用越来越广泛。然而其作用机制仍然很不明朗。细胞因子(cytokine, CK)是一类主要由激活免疫细胞分泌的小分子蛋白质或多肽,在机体内具有重要的生物学活性。神经系统、内分泌系统和免疫系统之间存在着双向联系,CK则是三大系统之间的信息交流的重要物质。干扰素(interferon, IFN)作为细胞因子家族中不可或缺的成员,亦在中枢神经系统疾患中扮演重要的角色。近年其于精神疾病中作用备受关注,这其中又尤以抑郁症为著[1]。基于以上原因,本实验试以IFN为切入点,从形态学角度观察抑郁模型大鼠经MECT或电休克(electro-convulsive treatment, ECT)后,海马及齿状回神经元和胶质细胞干扰素-γ受体(IFN-γR)的变化情况,对MECT治疗抑郁症的机制进行探讨。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康成年雄性SD大鼠40只,购置于第三军医大学实验动物中心,体质量(200±20)g。

1.1.2 试剂 兔抗鼠IFN-γR多克隆抗体、SABC荧光显色试剂盒、大鼠IFN-γR mRNA原位杂交试剂盒购自武汉博士德公司。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组及模型建立 大鼠购置后先熟悉饲养环境1周,每天人工触摸2 min。1周后分为对照组、应激组、应激+假电击组、应激+ECT组、应激+MECT组,每组8只。行开场分析(open-field test)试验。结束后对照组即取标本,余32只单

基金项目:重庆市科委自然科学基金(2004-54)
Supported by the Natural Science Foundition of Chongqing(2004-54)

作者简介:李大奇(1981-),男,内蒙古自治区呼伦贝尔市人,硕士研究生,主要从事心境障碍生物学机制和青少年心理方面的研究。电话:(023)89012696,E-mail:lchsh195096@163.com

通讯作者:况 利,电话:(023)89012696

收稿日期:2006-08-28;修回日期:2006-10-10

笼饲养，行 21 d 慢性轻度不可预见性的应激（chronic unpredicped mild stress，CUMS）处理。第 22 天行开场分析试验，试验后应激组即取标本，应激 + 假电击组行假电击实验，应激 + ECT 组行 ECT，应激 + MECT 组行 MECT，10 d 后行开场分析试验，结束后全部取标本。

1.2.2　开场分析　　按文献[1]方法进行。

1.2.3　假电击实验、ECT 及 MECT　　ECT 治疗经由有湿垫层的双耳夹电极施行。这可引起特征性的全身阵挛或强直性痉挛。ECT 组所有大鼠每天接受此种治疗 1 次，历时 10 d。假电击实验是夹有湿垫层的双耳夹电极，却并不行电击，与 ECT 组同时进行，历时 10 d。MECT 治疗是先鼠尾静脉静注阿托品 0.1 mg，然后缓慢静注丙泊酚 5 mg/kg，最后给予琥珀胆碱 0.2 mg/kg，待四肢肌群阵颤全部消失后，经由有湿垫层的双耳夹电极施行。表现为面部和头颈部及四肢的细微阵颤。治疗方式和时间同 ECT 组。

1.2.4　取材　　所有相关试剂均用 0.1% DEPC 水配制。动物常规取材固定、切片。

1.2.5　免疫荧光　　常规免疫荧光染色。采用激光共聚焦显微镜及图像分析系统进行分析。每只动物取 5 张切片，每张切片测双侧海马 CA1 区、CA3 区、齿状回（DG 区）阳性细胞内的平均荧光强度值作为该动物的值。

1.2.6　原位杂交方法常规原位杂交方法操作　　原位杂交结果采用北航医学图像分析管理系统-真彩色病理图像分析系统（4.0），分析阳性细胞的表达率。切片处理方法同共聚焦图像分析。

1.3　统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS 10.0 统计软件行方差分析及两两比较。

2　结果

2.1　开场分析结果

开场分析结果表明，应激后各指标均与应激前有显著差异（$P<0.01$），应激后表现出明显的抑郁状态，活动能力下降、兴趣丧失。应激 + ECT 组的中央停格时间、穿越格子数、站立次数与应激 + 假电击组比较有显著差异（$P<0.05$），应激 + MECT 组的中央停格时间、穿越格子数与应激 + 假电击组比较有显著差异（$P<0.05$）。应激 + ECT 组与应激 + MECT 组各指标无统计学差异（$P>0.05$）。见表 1。

表 1　开场分析结果

组别	例数	中央停格时间（s）	穿越格子数（个）	站立次数（次）	粪便粒数（粒）
应激前	32	2.5 ± 0.7	45.1 ± 10.2	27.4 ± 5.5	4.3 ± 1.9
应激后	32	6.1 ± 2.5[a]	26.3 ± 8.6[a]	12.5 ± 3.9[a]	7.1 ± 2.5[a]
应激 + 假电击	8	5.6 ± 1.7	28.1 ± 8.8	12.9 ± 3.8	6.4 ± 2.5
应激 + ECT 组	8	4.2 ± 1.4[b]	36.8 ± 8.9[b]	18.4 ± 5.2[b]	4.9 ± 3.1
应激 + MECT 组	8	4.0 ± 1.5[b]	37.6 ± 7.5[b]	19.4 ± 4.9[c]	5.1 ± 2.5

a：$P<0.01$，与应激前比较；b：$P<0.05$，c：$P<0.01$，与应激 + 假电击组比较

2.2　激光共聚焦显微镜观察结果

在不同的处理组均有不同程度的 IFN-γR 表达，主要分布于细胞膜和膜内部分。统计分析示平均荧光强度应激组、应激 + 假电击组最强分别为（56.0 ± 1.0）、（56.3 ± 1.5），其次为 ECT 组（36.5 ± 1.1），对照组较弱（29.9 ± 1.4），MECT 组最弱（24.6 ± 1.3）（图 1,2）。除应激组与应激 + 假电击组、对照组与 MECT 组外，两两相比均有显著性差异（$P<0.05$），其中 ECT 组及 MECT 组的表达量明显低于应激组及应激 + 假电击组（$P<0.01$）。MECT 组比 ECT 组的表达量要低（$P<0.05$）。

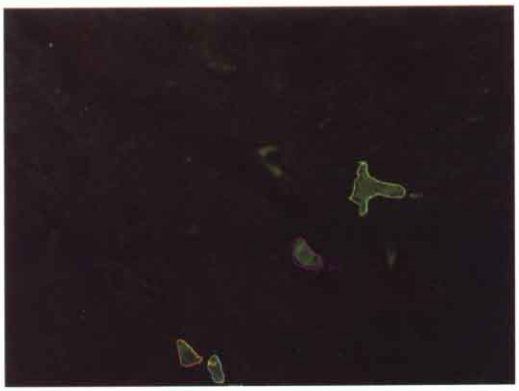


图 1　抑郁模型大鼠假电击后海马神经元上 IFN-γR 免疫荧光染色（激光共聚焦显微镜 ×400）

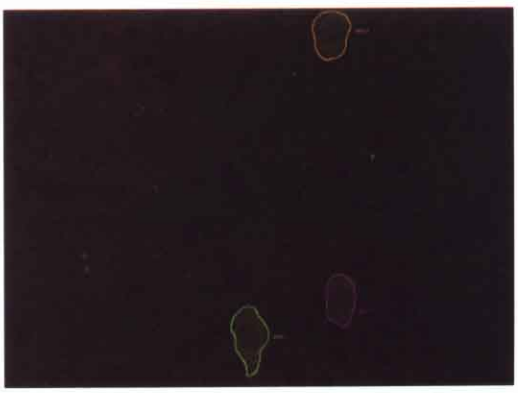


图 2　抑郁模型大鼠经 MECT 治疗后海马神经元上 IFN-γR 免疫荧光染色（激光共聚焦显微镜 ×400）

2.3　原位杂交结果

IFN-γR mRNA 的表达。各组的阳性表达率分别为：应激组（36.6 ± 2.1）；应激 + 假电击组（34.2 ± 3.2）；对照组（20.0 ± 2.5）；应激 + ECT 组（19.0 ± 1.5）；应激 + MECT 组（11.1 ± 1.2）（图 3,4）。经统计学分析：IFN-γR mRNA 的阳性表达除应激组与应激 + 假电击组、对照组与应激 + ECT 组外，两两相比均有显著性差异（$P<0.05$）。

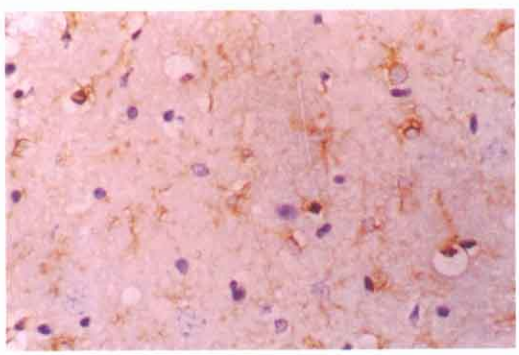


图 3　抑郁模型大鼠假电击后海马胶质细胞上 IFN-γR mRNA 原位杂交后的阳性表达（×400）

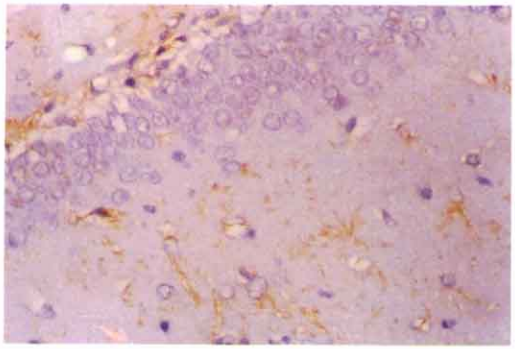


图4 抑郁模型大鼠 MECT 后海马胶质细胞上 IFN-γR mRNA 原位杂交后的阳性表达 （×400）

3 讨论

本实验采用单笼饲养与 CUMS 建立抑郁模型，应激后大鼠呈明显的活动能力下降、兴趣丧失、快感缺失，抑郁动物模型可靠[2]。开场分析试验显示两种电休克治疗较应激＋假电击组有显著改善。本实验免疫荧光及原位杂交结果均表明，抑郁模型大鼠海马神经元和胶质细胞中 IFN-γR 表达较对照组明显增加；而经电休克或 MECT 治疗后，IFN-γR 的表达显著降低，具有统计学意义。

抑郁症的发病被认为与脑内 5-羟色胺（5-HT）有关。IFN-γ 等炎症因子可通过结合其受体直接或间接激活吲哚胺-2，3 二氧化酶，促进 5-HT 的前体-色氨酸的代谢，从而降低 5-HT 的浓度[3]。另外，IFN-γ 可由多种负反馈机制直接或间接作用于甲状腺细胞上的受体，诱导其产生其他 CK，进而调节下丘脑-垂体-甲状腺轴[4]。还有学者发现 IFN-γ 及其受体可激活细胞间信号传导通路，并调控 IL-l、2、6、8 等细胞因子的表达，引起与情绪反应有关的行为，继而认为 IFN-γ 及其受体信号传导的相互作用与抑郁症的发生有关[5]。

ECT 可显著增加海马齿状回的细胞增殖[6]；并可促进脑源性神经营养因子（BDNF）mRNA 及其高亲和性受体酪氨酸激酶 B（trkB）的持续增长，同时通过阻滞 BDNF mRNA 的下调来抵抗应激[7]。这样，ECT 通过使应激后海马的神经再生正常化来达到抗抑郁的作用。最为重要的是，ECT 可促使环氧化酶-2（Cox-2）增加，神经元的 Cox-2 与突触的可塑性及细胞再生、记忆的巩固、脑内微循环等有关；而 Cox-2 恰可由炎症反应时的 CK 诱导增生[8]。这其中可能就包括 IFN-γ 及其受体的作用。我们的实验结果显示，ECT 组较对照组、应激组及假电击组有明显改善，与这些结论相符。

结果还显示，MECT 治疗组 IFN-γR 荧光强度和原位杂交表达率均较 ECT 治疗组低，且有统计学意义，似可说明 MECT 较 ECT 疗效更好。行 ECT 时，全身肌肉痉挛，这种强烈的刺激可能引起机体的炎症反应，进而产生大量的 CK，这些 CK 与其受体结合，再介导各种细胞内的信号传导。而行 MECT 时，我们应用了丙泊酚。丙泊酚镇静效果好，抑制脑电明显，抑制神经元凋亡作用显著，具有良好的脑保护作用[9]。它明显抑制海马 CA1 区锥体细胞凋亡，对谷氨酸盐、同型半胱氨酸、过氧化氢诱导的鼠脑皮质和海马区 HT-2 神经元凋亡亦有良好抑制作用[10]。另一方面，MECT 只引起部分肌肉的阵颤，而非全身肌肉的强烈痉挛，可能大幅减少了 CK 的释放。这可能是 MECT 组较 ECT 组疗效好的机制。

综上所述，某些细胞因子的确在抑郁症的病理生理及治疗中起一定作用。若能进一步在分子水平揭开 CK 在神经元和胶质细胞信号传导中的具体机制，势必为抑郁症发病机制、治疗方法带来新的契机。

参考文献：

[1] Capuron L, Ravaud A, Neveu P J, *et al*. Association between decreased serum tryptophan concentrations and depressive symptoms in cancer patients undergoing cytokine therapy[J]. Mol Psychiatry, 2002, 7(5): 468－473.

[2] 许 晶，李晓秋. 慢性应激抑郁模型的建立及其评价[J]. 中国行为医学科学，2003，12(1)：14－17.

[3] Gleason O C, Yates W R, Philipsen M A, *et al*. Plasma levels of citalopram in depressed patients with hepatitis C[J]. Psychosomatics, 2004, 45(1): 29－33.

[4] Loftis J M, Wall J M, Linardatos E, *et al*. A quantitative assessment of depression and thyroid dysfunction secondary to interferon-alpha therapy in patients with hepatitis C[J]. J Endocrinol Invest, 2004, 27(7): RC16－RC2O.

[5] Taylor J L, Grossberg S E. The effects of interferon-alpha on the production and action of other cytokines[J]. Semin Oncol, 1998, 25(1 Suppl 1): 23－29.

[6] Madsen T M, Treschow A, Bengzon J, *et al*. Increased neurogenesis in a model of electroconvulsive therapy[J]. Biol Psychiatry, 2000, 47(12): 1043－1049.

[7] Nibuya M, Morinobu S, Duman R S. Regulation of BDNF and trkB mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatments[J]. J Neurosci, 1999, 15(11): 7539－7547.

[8] Newton S S, Collier E F, Hunsberger J, *et al*. Gene profile of electroconvulsive seizures: induction of neurotrophic and angiogenic factors[J]. J Neurosci, 2003, 23(34): 10841－10851.

[9] 秦晓辉，米卫东，张 宏，等. 异丙酚对神经元缺氧损伤的保护及其作用机制[J]. 中国药理学通报，2003，19(9)：1024－1027.

[10] Sagara Y, Hendler S, Khoh-Reiter S, *et al*. Propofol hemisuccinate protects neuronal cells from oxidative injury[J]. J Neurochem, 1999, 73(6): 2524－2530.

（编辑 龙 亮）