

慢性强迫游泳应激对大鼠情绪 和脑细胞外信号调节激酶的影响*

亓晓丽¹ 林文娟¹ 李俊发²

(¹ 中国科学院心理研究所脑-行为研究中心,北京 100101) (² 首都医科大学大学生物学教研室,北京 100054)

摘 要 为探讨慢性强迫游泳应激对动物情绪和脑组织细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK1/2)的影响,动物情绪和脑组织 ERK1/2 之间的关系,将动物随机分为游泳应激组、装置对照组和控制组。分别对三组大鼠给予相应的干预 14 天,然后进行行为观察,免疫印记法测定海马和前脑皮质 ERK1/2 水平。结果表明强迫游泳应激组和装置对照组都出现明显的情绪障碍。两组大鼠 ERK1/2 在前脑皮质的表达水平均显著升高,海马无显著变化。前脑皮质 ERK2 与糖精水摄入量呈显著负相关。提示慢性强迫游泳应激能够诱导大鼠的情绪障碍,提高 ERK1/2 在前脑皮质的表达水平,ERK1/2 与情绪关系密切,可能是脑组织应激性情绪调节的重要生理机制。强迫游泳应激能够导致动物明显的抑郁反应,是比较理想的抑郁动物模型。

关键词 游泳应激,抑郁,海马,前脑皮质,细胞外信号调节激酶

分类号 B845

1 前言

丝裂原激活的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)信号通路是指依靠三个顺次激活的激酶来完成信号传递的调节因子家族,MAPK 信号通路广泛存在于真核细胞,调节细胞的多种功能。目前已知主要有三条这样的通路,分别为细胞外信号调节的蛋白激酶(Extracellular signal-regulated protein kinase, ERK)通路,即 ERK/MAPK 信号通路、c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinases, JNK)通路,即 JNK/MAPK 通路和 P³⁸/MAPK 通路。其中 ERK/MAPK 通路是目前研究最充分也是功能最重要的一个^[1]。ERK 共有两个异构体 ERK1 和 ERK2,分子量分别为 44kd 和 42kd。ERK 作为 ERK/MAPK 通路的最后一个底物,其磷酸化形式能够直接从细胞质转移到细胞核,从而介导细胞外信息向细胞核内转移,调节神经元的增殖、分化和凋亡等核反应^[2],在许多生理功能中发挥重要作用,因此,成为众多研究的焦点。

最初的研究认为 ERK1/2 主要参与细胞的生长和分化,后来,在成熟的神经细胞内也发现 ERK1/2 的存在,因此,研究者们认为它可能在神经细胞的功

能调节中也扮演重要的角色。ERK 抑制剂 PD98059、U0126 和 SL327 的发现和ación对 ERK 功能的研究提供了强有力的手段。ERK1/2 广泛分布于中枢神经系统,在海马和前脑皮质的表达尤其显著。目前对于 ERK1/2 在心理学领域的研究主要集中于学习和记忆方面,研究结果表明它能够提高动物的学习能力,促进记忆巩固,调节长时程增强(long-term potentiation, LTP)等神经可塑性变化^[3]。有研究指出当动物在 Morris 水迷宫中进行水下平台探索时,海马组织中的 ERK 被激活。向海马中注入 PD98059 或 SL327,能够损伤动物记忆平台的能力^[4]。ERK 也参与海马 CA3-CA1 突触环路中经典 LTP 的形成,以及海马 CA1 区及齿状回几种形式的 LTP^[5]。然而,关于 ERK 在情绪调节中的作用,尤其是在心理社会应激导致的情绪障碍中的作用,却鲜有报道。海马和前脑皮质是应激发应神经环路的重要组成部分,同时也是情绪调节的重要脑区^[6],临床前的研究表明应激能够引起海马 CA3 区锥体细胞的萎缩或丢失,齿状回颗粒细胞的再生抑制^[7]。临床脑成像也表明抑郁病人海马体积减小^[8]。这些资料表明海马参与了抑郁的病理生理机制。临床研究也指出前脑皮质在抑郁中的作用。

收稿日期:2005-09-12

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

通讯作者:林文娟, E-mail: linwj@psych.ac.cn

抑郁病人前脑皮质存在血流、代谢和体积的改变^[9]。此外,尸检的研究表明死亡时抑郁的人前脑皮质神经元和胶质细胞数量均减少^[10]。因此,大多数应激和抑郁研究都将这两个脑区作为研究对象,同时也是本研究的研究脑区。关于 ERK 在应激中的作用,目前的研究相对较少。有研究发现急性游泳应激能够增强前脑皮质 ERK1/2 的活性^[11],急性限制应激显著的提高了大鼠在海马、前脑皮质 P-ERK2 水平^[12],从而推测 ERK1/2 的升高可能是脑组织应激反应的重要保护机制。然而,他们的研究没有行为学指标,因此,不能将 ERK1/2 的变化和行为的变化结合起来,从而不能评价它在应激和情绪反应中的作用。而且,急性应激和慢性应激可以引发机体产生不同的反应,而人类情绪障碍的发病大多数是由慢性应激所诱发,因此,这些应激模型在模拟人类情绪障碍方面缺乏表面效度。基于上述研究的不足,本研究引入慢性游泳应激建立动物模型,然后检测海马和前脑皮质 ERK1/2 蛋白质水平的变化,同时将动物的行为作为研究指标,因此,能够在应激、蛋白质和行为三个维度更好的探讨情绪障碍的机制。

关于强迫游泳应激的动物模型,有的研究者认为是理想的抑郁动物模型,动物在水中的漂浮是一种绝望的表现^[13],另一些则认为动物在水中的漂浮是一种适应机制,动物以此保存体力,而非绝望和抑郁的表现^[14]。针对这些争议,本研究利用经典的行为测验来评价动物是否出现抑郁行为反应,从而能够更好的检验这一模型的表面效度。进一步评价它作为抑郁动物模型的合理性,目前尚未发现相关报道,对于这一动物模型在心理学领域的应用具有一定的参考价值。

2 材料和方法

2.1 实验动物

选用健康雄性 Sprague - Dawley 大鼠 30 只,体重 250g 左右,购自维通利华实验动物中心。所有实验大鼠均单笼喂养。在实验室中给予 7d 的适应期,适应期内每天接受 3min 抚摸。光/暗周期为 12 h/12h(其中光照时间 08:00 - 20:00 h),室温(22.0 ± 0.5)℃,除糖水测验期,自由摄食和饮水。

2.2 动物模型的建立

将实验大鼠按照随机原则分为游泳应激组、装置对照组和控制组,每组各 10 只。

2.2.1 游泳应激组

每天上午 8 时将大鼠置于水温 10℃,水深为 30cm 的水池(2.0 m × 1.0 m × 1.5 m)中强迫其游泳,每次一只,每次游 5min,每天一次,持续 14d。游泳结束后迅速地用干毛巾将游泳大鼠擦干,然后放回笼中。

2.2.2 装置对照组 每天上午将大鼠放入空水池(2.0 m × 1.0 m × 1.5 m)中,每次一只,每次 5min,每天 1 次,持续 14d。5min 后放回笼中饲养。

2.2.3 控制组 不进行任何处理,在笼中饲养。

2.3 行为观察

2.3.1 体重测量 分别在入组第一天、适应期第七天、应激第七天和应激第 14 天称量三组大鼠的体重。并计算适应期内、应激 7 天内和应激 14 天内的体重增长量。从入组第一天到适应期第七天的体重增长记为 CWT 增,从适应期第七天到应激第七天的体重增长记为 SWT7 增,从适应期第七天到应激第 14 天的体重增长记为 SWT14 增。

2.3.2 旷场测验 末次应激后 24h 进行 open - field 旷场(直径为 1.8m,高 50cm)测验,摄像机对大鼠行为进行摄像,每只大鼠观察 5min。观察指标主要包括垂直活动、水平活动、呆滞行为和排泄行为。垂直活动为直立的次数,水平活动为计算机所测量到的活动距离,呆滞行为为呆滞的时间,排泄行为为动物在旷场中的大便颗粒数。

2.3.3 高架十字迷宫测验 旷场实验完毕立刻进行高架十字迷宫测验。将大鼠放至迷宫的中间区,面向闭臂,然后观察 5min。主要观察指标为:开臂停留时间;闭臂停留时间;开臂探索次数(三肢进入臂内即为一次探索);闭臂探索次数。

2.3.4 快感缺乏测验 在应激第 14d 的晚上对动物进行整夜的饮水剥夺,第 15d 开始将动物暴露于两个瓶子下(一个装白水,一个装 1% 糖精水溶液) 3h。测试在光照时间第 7 ~ 10h(14:00 ~ 17:00h)之间,每天一次,连续 4d。每天测量动物对自来水和糖精水的摄入量,并计算四天的平均摄入量,以及糖精水占总液体摄入量的比例。

2.4 免疫印记(western blotting)

2.4.1 仪器和试剂 兔源性抗 ERK1/2 总蛋白单克隆抗体、鼠源性抗 β - Actin 单克隆抗体、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 抗体、辣根过氧化物酶标记的山羊抗鼠 IgG 抗体、0.2 μ m 硝酸纤维素膜(Nitrocellulose filter, NC)、聚丙烯酰胺凝胶和全细胞裂解液(buffer)均购于美国 Sigma 公司;二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白检测试剂盒、增强型化学发光系统(enhanced chemiluminescence, ECL)

试剂盒购自美国 Pierce 公司;凝胶色谱半定量分析仪和 Gel - Doc 分析软件购自美国 Bio - Rad 公司。

2.4.2 样品的制备 糖精水测验结束的第二天上午 8 时断头处死所有大鼠,冰上迅速剥离大脑,将脑放入一个不锈钢脑模矩里面,根据 Paxinos 和 Watson 图谱^[15]取前脑皮质,并将整个海马游离拨出,迅速用液氮冷冻标本。加入约 20 倍组织体积的全细胞裂解液 (buffer, 含有 50mM Tris - cl, pH 7.5, 2mM EDTA, 2mM EGTA, 0.05mM okadaic acid, 1uM sodium vanadate, 5ug/ml pepstatinA 和 0.5% Nonidet P - 40), 然后在匀浆器中对组织进行机械匀浆。匀浆中加入 BCA 液摇匀,在 37℃ 水浴箱中温育 30min,通过蛋白分光光度仪进行样品总蛋白质浓度的测定。将样品与 5 × 烷基硫酸钠 (sodium dodecyl sulfate, SDS) 样品缓冲液混和制备一定浓度的样品溶液。样品溶液在 90℃ 条件下加热 5min,然后储存于 -80℃ 冰箱中备用。

2.4.3 电泳分离和免疫反应 用 15% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳分离样品蛋白质,同时加载蛋白质梯度分子标志 (marker) 以确定要测量的蛋白质条带。将蛋白质转移至 NC 膜。NC 膜以封闭液 (10% 脱脂奶粉溶于含有 0.5% Tween - 20 的 Tris 缓冲盐 (Tris - buffered saline containing 0.5% Tween - 20, TTBS)) 室温封闭 1h。TTBS 洗膜 10min × 3 次。加入兔源性抗 ERK1/2 总蛋白单克隆抗体 (用 TTBS 1:1000 稀释) 4℃ 过夜,TTBS 洗膜 10min × 3 次。辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 抗体 (用 TTBS 1:4000 稀释) 孵育,室温 1h,TTBS 洗膜 10min × 3 次。加入 ECL 发光剂,曝片显影。在室温下对同一张 NC 膜用洗脱液洗 15min,以洗去先前结合的抗体,用于下一个蛋白质的测量。重新进行封闭 1h,TTBS 洗膜 10min × 3 次,和相应的一抗在 4℃ 反应过夜,一抗为鼠源性抗 β - Actin 单克隆抗体 (此实验中 β - Actin 作为一种内参蛋白质),与山羊抗鼠 IgG 抗体室温下反应 1h,和 ECL 反应,曝片显影。

2.4.4 免疫印记条带的定量分析 通过计算机化成像半定量分析系统对胶片上的 ERK1/2 蛋白条带和 β - Actin 蛋白条带进行分析。每一条蛋白质条带的光密度 (optical density, OD) 值与其面积的乘积即为该条带的吸光度。以 β - Actin 蛋白作为内部参照蛋白来消除实验过程中可能造成的误差,ERK1/2 蛋白条带吸光度与 β - Actin 蛋白条带吸光度的比值即为 ERK1/2 的最终值。通过对此最终值的比较来判断组间差异性。

2.5 统计分析

行为测量的各项指标是将控制组的均数标准化为 100,其余各组的结果为与标准化控制组的比值,ERK1/2 的结果为与内参蛋白的比值,对此比值进行统计分析。所有数据采用 SPSS 11.0 for windows 统计软件处理,结果以平均值 ± 标准差 ($M \pm SD$) 表示。组间比较用单因素方差分析 (One - way ANOVA) 和最小显著差法 (least significant difference, LSD),相关分析为 Pearson 积差相关。 $p \leq 0.05$ 为可接受的显著性水平。

3 结果

3.1 体重比较

结果显示三组大鼠在适应期内的体重增长 CWT 增无显著差别;游泳应激组在应激七天内的体重增长 SWT 增 [(75 ± 22)g] 显著低于控制组 [(101 ± 35)g] 和装置对照组 [(113 ± 35)g] ($p < 0.05$);游泳应激组在应激 14 天内的体重增长 [(70 ± 24)g] 也显著低于控制组 [(115 ± 47)g] 和装置对照组 [(126 ± 43)g] ($p < 0.05$) (如图 1 所示)。

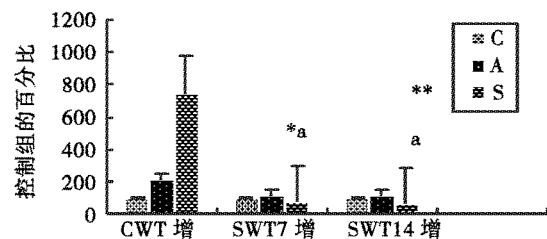


图 1 三组大鼠体重增长比较 ($M \pm SD$)

3.2 旷场测验

装置对照组的粪便排泄量 [(1.4 ± 1.9) 粒] 多于控制组 [(0.41 ± 1.00) 粒] 和游泳应激组 [(0.10 ± 0.30) 粒] ($p < 0.05$),而游泳应激组的水平活动距离 [(2077 ± 1245) cm] 少于控制组 [(2990 ± 1038) cm] 和装置对照组 [(3110 ± 1462) cm] ($p < 0.05$),其余各项指标无显著差别 (如图 2 所示)。

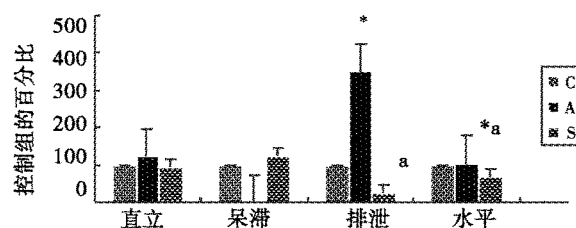


图 2 三组大鼠旷场测验结果比较 ($M \pm SD$)

注:与控制组比较, * $p < 0.05$;与装置对照组比较, ^a $p < 0.05$ 。C:控制组;A:装置对照组;S:游泳应激组

3.3 高架十字迷宫测验

与控制组[开臂(127 ± 44)s,闭臂(173 ± 44)s]比较游泳应激组的开臂停留时间[(90 ± 72)s]显著缩短,而闭臂停留时间[(210 ± 72)s]显著增加($p < 0.05$);装置对照组的开臂停留时间[(114 ± 41)s]比控制组降低,但未达到显著水平。三组大鼠在开臂和闭臂的探索次数无显著差别(如图3所示)。

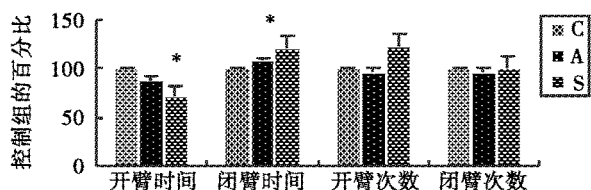


图3 三组大鼠高架十字迷宫测验结果比较($M \pm SD$)

注:与控制组比较,* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$;与装置对照组比较,^a $p < 0.05$ 。C:控制组;A:装置对照组;S:游泳应激组

3.4 糖精水测验

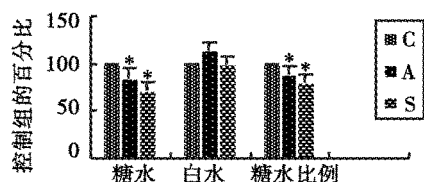


图4 三组大鼠糖精水测验结果比较($M \pm SD$)

游泳应激组的糖精水溶液摄入量[(11 ± 6)g]和糖精水溶液摄入量占总液体摄入量的比例(0.37 ± 0.16)均低于控制组[分别为[(15 ± 4)g,(0.47 ± 0.15)]($p < 0.05$);装置对照组的糖精水摄入量[(13 ± 6)g]显著降低,糖精水占总液体摄入量的比

例(0.40 ± 0.17)亦显著降低($p < 0.05$)。三组大鼠的白水摄入量无显著差别(如图4所示)。

3.5 海马和前脑皮质 ERK1/2 的表达水平

与控制组[ERK1(0.20 ± 0.37),ERK2(0.34 ± 0.14)]比较,游泳应激组在前脑皮质的 ERK1(0.43 ± 0.14)和 ERK2(0.92 ± 0.20)表达水平均显著升高($p < 0.05$);装置对照组在前脑皮质的 ERK1(0.33 ± 0.13)和 ERK2(0.58 ± 0.19)表达水平显著升高($p < 0.05$);游泳应激组在前脑皮质的 ERK2 表达水平显著高于装置对照组($p < 0.05$);三组大鼠在海马的 ERK1 和 ERK2 表达水平均无显著差别(如图5所示,蛋白质条带见附图)。

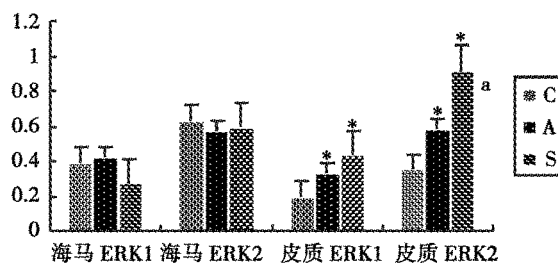


图5 海马和前脑皮质 ERK1/2 结果比较($M \pm SD$)

注:与控制组比较,* $p < 0.05$;与装置对照组比较,^a $p < 0.05$ 。C:控制组;A:装置对照组;S:游泳应激组

3.6 行为指标与海马和前脑皮质 ERK1/2 的相关分析

行为学测量指标与海马和前脑皮质 ERK1/2 的相关分析结果显示前脑皮质 ERK2 与糖精水摄入量呈显著负相关($p < 0.01$),其余相关未达到显著水平(如表1所示)。

表1 行为指标与海马和前脑皮质 ERK1/2 的相关分析(r)

指标	直立	水平距离	呆滞	排泄	开臂时间	开臂次数	糖精水量
海马 ERK1	0.19	0.31	0.05	0.19	0.08	-0.04	0.32
海马 ERK2	-0.11	0.03	0.08	0.18	0.16	0.12	0.20
皮质 ERK1	0.38	0.04	0.06	-0.37	-0.22	-0.02	0.14
皮质 ERK2	-0.01	-0.20	-0.08	-0.25	-0.21	0.25	-0.38**

注:** $p < 0.01$

4 讨论

本研究发现游泳应激诱发了动物明显的焦虑和抑郁情绪,动物的体重增长缓慢,对光亮的地方探究兴趣降低,活动性降低,对奖励物质糖精水的渴求降低,表现为快感缺乏。装置对照组也表现了轻度的焦虑和抑郁情绪反应。游泳应激组和装置对照组在体重增长、水平活动距离、排泄等指标的显著差别,

说明游泳应激组的焦虑和抑郁反应程度明显高于装置对照组,游泳应激能够诱发动物的情绪障碍。关于应激与行为的关系目前研究相当广泛,但结果确不尽一致。有研究者发现母爱剥夺、社会交往剥夺等心理社会应激都能使动物在高架十字迷宫的开臂停留时间缩短,在旷场中的活动降低^[16,17],与本研究结果一致。Thorsell 等发现一次限制应激使动物在高架十字迷宫中的焦虑水平升高,多次应激后动

物表现为适应现象^[18],本研究给予动物连续 14 天的应激未发现适应现象。Pijlman 等^[19]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,生理应激却引起上述行为减少。而本研究所采用应激方式为游泳应激,其中包含了动物在冷水中所受的生理应激和面对生存威胁时求生、绝望等造成的心理应激,结果发现它能够导致动物的抑郁行为。上述研究结果的差别可能是由应激的种类、性质和时程不同所致。本研究采用慢性应激模型,动物出现的行为反应也较好的模拟了人类抑郁情绪,具有比较理想的表面效度,能够为应激所致行为障碍的机制探讨提供有力的实验手段。

本研究发现游泳应激和装置应激都能够提高 ERK1/2 在前脑皮质的表达水平,且两组在前脑皮质 ERK2 的表达存在显著差异,说明强烈的游泳应激能够显著的提高皮质 ERK2 的表达水平。海马的 ERK1/2 对应激不敏感。大量研究资料表明在机体的应激反应中,最有可能参与的脑区就是海马和前脑皮质^[6],而本研究未发现 ERK1/2 在海马的变化。国外有些研究者也发现了类似的结果,他们指出急性强迫游泳应激提高了前脑皮质 ERK 磷酸化水平,但在海马没有变化^[11]。而另有研究者发现急性限制应激则显著的提高大鼠在海马、前脑皮质 P-ERK2 水平^[12]。考虑可能与应激的类型以及应激的具体实施程序都有关系。此外海马具有一定的结构可塑性和丰富的突触联系,有可能通过代偿机制将应激反应恢复至正常水平,产生适应性。虽然上述研究结果存在差别,但他们都发现前脑皮质在应激反应中的作用,本研究的相关分析也显示前脑皮质的 ERK2 与糖精水的摄入量呈显著负相关。这表明前脑皮质不仅参与学习和工作记忆的巩固^[20],也在应激和情绪调节中具有重要作用。临床资料也表明抑郁病人存在前脑皮质功能异常^[21]。

本研究显示游泳应激提高了前脑皮质 ERK1/2 的表达水平,且前脑皮质的 ERK2 与糖精水的摄入量呈显著负相关,而糖精水摄入量是衡量抑郁的最敏感指标,其摄入量的降低能够反映抑郁的核心症状-快感缺乏^[22]。这提示 ERK1/2 可能是反映抑郁情绪的敏感生物学指标,而它的升高可能是脑组织情绪调节的重要应激性保护反应。转移至细胞核内的 ERK1/2 最重要的一个功能就是与转录因子 cAMP 反应元件结合蛋白(cyclic-AMP-responsive element-binding protein, CREB)结合,从而启动基因的表达和调控,进而调节神经元的各种功能^[23]。

然而,ERK1/2 调节神经元功能的具体机制仍有待继续探讨。

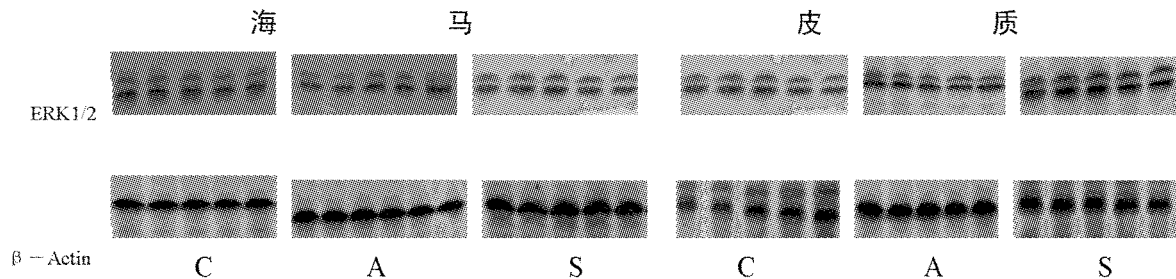
本实验采用经典的测量抑郁的装置旷场测验,同时用反映抑郁核心症状-快感缺乏-的糖精水测验来综合测量动物的情绪反应,结果都表明动物出现了行动迟缓,缺乏快感的症状,较好的模拟了人类的抑郁情绪反应。说明具有良好的表面效度。某些抗抑郁药研究的结果也发现这一模型具有良好的预测效度^[13],因此,可以用来建立抑郁动物模型。

参 考 文 献

- 1 Johnson G L, Lapadat R. Mitogen-activated protein kinase pathways mediated by ERK, JNK, and p38 protein kinases. *Science*, 2002, 298: 1911-1912
- 2 Pearson G. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions. *Endocrine Reviews*, 2001, 22: 153-183
- 3 Blum S, Moore A N, Adams F, et al. A mitogen-activated protein kinase cascade in the CA1/CA2 subfield of the dorsal hippocampus is essential for the long-term spatial memory. *The Journal of Neuroscience*, 1999, 19: 3535-3544
- 4 Hebert A E, Dash P K. Extracellular signal-regulated kinase activity in the entorhinal cortex is necessary for long-term spatial memory. *Learning & Memory*, 2002, 9: 156-166
- 5 Kanterewicz B I. The extracellular signal-regulated kinase cascade is required for NMDA receptor-independent LTP in area CA1 but not area CA3 of the hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 2000, 20: 3057-3066
- 6 Shen C P, Tsimberg Y, Salvadore C, et al. Activation of Erk and JNK MAPK pathways by acute swim stress in rat brain regions. *BMC Neuroscience*, 2004, 5: 36
- 7 McEwen B S. Stress and hippocampal plasticity. *Annual Review of Neuroscience*, 1999, 22: 105-122
- 8 Bremner J D, Narayan M, Anderson E R, et al. Smaller hippocampal volume in major depression. *The American Journal of Psychiatry*, 2000, 157: 13290-13295
- 9 Drevets W C, Price J L, Simpson J R, et al. Subgenual prefrontal cortex abnormalities in mood disorders. *Nature*, 1997, 386: 824-827
- 10 Rajkowska G, Miguel-Hidalgo J J, Wei J, et al. Morphometric evidence for neuronal and glial prefrontal cell pathology in major depression. *Biological Psychiatry*, 1999, 45: 1085-1098
- 11 Meller E, Shen C P, Talia A, et al. Region-specific effects of acute and repeated restraint stress on the phosphorylation of mitogen-activated protein kinases. *Brain Research*, 2003, 979: 57-64
- 12 Haddjeri N, Blier P, De Montigny C. Long-term antidepressant treatments result in a tonic activation of forebrain 5-HT1A receptors. *The Journal of Neuroscience*, 1998, 8: 10150-10156
- 13 Bach-Rojecky L, Kalodjera Z, Samarzija I. The antidepressant activity of *Hypericum perforatum* L. measured by two experimental

- methods on mice. *Acta Pharmaceutica*, 2004, 54: 157 ~ 162
- 14 D'Aquila P S, Panin F, Serra G. Long-term imipramine withdrawal induces a depressive-like behaviour in the forced swimming test. *European Journal Pharmacology*, 2004, 492: 61 ~ 63
- 15 Paxinos G, Watson C R, Emson P C. AChE-stained horizontal sections of the rat brain in stereotaxic coordinates. *Journal of Neuroscience Methods*, 1980, 3: 129 ~ 149
- 16 Wigger A, Neumann I D. Periodic maternal deprivation induces gender-dependent alterations in behavioral and endocrine response to emotional stress in adult rats. *Physiology Behavior*, 1999, 66 (2): 293 ~ 302
- 17 Lershina I P, Shuikin N V. Peculiarities of exploration behaviour of socially deprived rats in stress situation. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im IP Pavlova*, 2002, 52(5): 602 ~ 608
- 18 Thorsell A, Carsson K, Ekman R, et al. Behavioral and endocrine adaptation and up-regulation of NPY expression in rat amygdala following repeated restraint stress. *Neuroreport*, 1999, 10 (14): 3003 ~ 3007
- 19 Pijlman 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
- 20 Miller E K. The prefrontal cortex and cognitive control. *Nature Reviews Neuroscience*, 2000, 1: 59 ~ 65
- 21 Drevets W C. Neuroimaging and neuropathological studies of depression; implications for the cognitive-emotional features of mood disorders. *Current Opinion Neurobiology*, 2001, 11: 240 ~ 249
- 22 Cryan J F, Markou A, Lucki I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2002, 23: 238 ~ 245
- 23 Hardingham G E, Arnold F J, Bading H A. Calcium microdomain near NMDA receptors: on switch for ERK-dependent synapse-to-nucleus communication. *Nature Neuroscience*, 2001, 4: 565 ~ 566

附图 蛋白质条带图



注: C:控制组;A:装置对照组;S:游泳应激组

The Effects of Chronic Forced Swimming Stress on Emotion and Extracellular Signal-regulated Kinase of Brain in Rats

Qi Xiaoli, Lin Wenjuan, Li Junfa

(Brain-Behavior Research Center, Institute of Psychology, Chinese Academy of Science, Beijing 100101, China)

Abstract

The generic term mitogen-activated protein kinases (MAPKs) is used to denote a family of signal transduction mediators that regulate a diverse array of cellular functions via activation of a sequential phosphorylation cascade involving a three-protein cassette. Among several MAPKs cascades that have been characterized, the extracellular signal-regulated kinases 1 and 2 (ERK1/2) are the most widely investigated. ERK1/2 are extensively distributed throughout the central nervous system and prominently found in the hippocampus and prefrontal cortex. At present, ERK1/2 are being extensively studied in the field of learning and memory. Recent data have demonstrated that ERK has a vital role in the hippocampus-dependent learning and memory and prefrontal cortex-dependent conditioning. It can facilitate learning and

memory consolidation and regulate neuronal plasticity. However, there is rather little evidence concerning the role of ERK1/2 in stress response and emotional regulation. The purpose of the present study was to detect the effects of chronic forced swimming stress on emotion and ERK1/2 in the hippocampus and the prefrontal cortex in rats and to determine the relation between emotion and ERK1/2 of brain.

Thirty rats were randomly divided into three groups. They were the swimming stress group, apparatus control group, and the control group. The stressed animals received swimming stress for 5 minutes once a day for 14 days. The apparatus controls were placed in a novel environment for 5 minutes once a day for 14 consecutive days. The controls were free of stress. After stress, rats were tested with an open - field, elevated - plus maze and saccharin preference test. They were then decapitated and dissected to detect the ERK1/2 of the hippocampus and prefrontal cortex with blotting. It was found that both the swimming stress group and the apparatus control group showed significant emotional disorders. The body weight gain of the stressed group was significantly lower than that of the control group and the apparatus controls. The defecation of the apparatus controls was more than that of the control group and the stressed group. The locomotion of the stressed group was significantly lower than that of the other two groups. Compared to the controls, the stressed animals spent a shorter time in open arms and longer time in closed arms. The saccharine solution consumed and the ratio of the saccharine solution consumed to the total liquid consumed of both the stressed group and the apparatus controls were significantly lower than that of the control group. There were enhanced levels of ERK1/2 in the prefrontal cortex of the stressed group and the apparatus controls, with no change in the hippocampus. The ERK2 level of the prefrontal cortex was negatively correlated with the amount of the saccharin solution consumed. The results suggested chronic swimming stress could induce emotional disorders and increase the level of ERK1/2 in the prefrontal cortex. ERK1/2 was closely linked to emotional response and could provide new insight into the mechanism underlying protective reaction under stressful situations.

Key words swimming stress, depression. hippocampus, prefrontal cortex, extracellular signal - regulated kinase.