

GABA_B受体拮抗剂对小鼠学习记忆的促进作用

俞在芳* 胡本荣 程冠军**

(中山医科大学药理教研室; **肿瘤研究所, 广州 510089)

摘要 用一次性被动回避性条件反射方法, 观察了 γ -氨基丁酸(GABA_B)受体(GB-R)激动剂巴氯芬(baclofen)及 GB-R 受体拮抗剂 CGP₃₅₃₄₈和 CGP₃₆₇₄₂对小鼠学习和记忆获得、巩固及再现的影响; 结果表明, GB-R 拮抗剂可显著改善巴氯芬所致的学习和记忆获得障碍, 并能显著改善巴氯芬、亚硝酸钠所致的记忆巩固障碍及巴氯芬、乙醇所致的记忆再现障碍, 提示 GB-R 拮抗剂有望成为新型治疗老年性痴呆的药物。

关键词 GABA_B受体拮抗剂 CGP₃₅₃₄₈和 CGP₃₆₇₄₂; 学习; 记忆

GABA_B受体(GB-R)是 Bowery 于 1980 年发现的, 它通过 G 蛋白与 Ca²⁺, K⁺通道偶联, 调节腺苷酸环化酶及磷脂酰肌醇系统活性^[1]。GB-R 配体对学习记忆的作用研究尚未见国内文献报道, 国际上多数研究表明, 全身及脑内给予 GB-R 激动剂巴氯芬可引起记忆障碍^[2~4], 但也有相反的报道^[5], GB-R 拮抗剂 CGP₃₅₃₄₈可逆转东莨菪碱所致的记忆缺失^[6], 而对记忆其它过程是否有影响未见报道。CGP₃₆₇₄₂是更新的口服有效的 GB-R 拮抗剂, 未见对学习记忆的影响报道。本实验用跳台法和避暗法, 观察巴氯芬及 GB-R 拮抗剂 CGP₃₅₃₄₈及 CGP₃₆₇₄₂对小鼠学习和记忆的获得、巩固及再现的影响。

材 料 与 方 法

体重 22.1 ± 0.8 g 的昆明种小鼠 212 只, ♀♂兼用, 由中山医科大学动物中心提供。

实验用跳台法或避暗法。跳台反应箱箱底为铜栅, 通以 36 V 交流电, 箱内置一高 4.5 cm, 直径 4.5 cm 的橡皮垫, 作为动物回避电击的安全区。避暗箱分明暗两室, 暗室底部铜栅通以 36 V 交流电, 两室之间有一直径 3 cm 的洞相通。

按文献^[7]一次性训练, 于训练前 10 min ip 东莨菪碱 1 mg·kg⁻¹造成记忆获得障碍模型; 于训练后 24 h, 测验前 10 min ig 30% 乙醇 0.1 ml/10 g 造成记忆再现障碍模型; 于训练后即刻 sc 亚硝酸钠(NaNO₂) 125 mg·kg⁻¹, 造成记忆巩固障碍模型。

巴氯芬(baclofen, Sigma 公司), NaNO₂(北京化工厂), CGP₃₅₃₄₈及 CGP₃₆₇₄₂(瑞士 Ciba-Geigy 公司惠赠, 化学结构见图 1), 均以生理盐水(NS)配制。

本文于 1995 年 9 月 26 日收到。

* 现在上海医科大学神经生物学国家重点实验室, 上海 200032

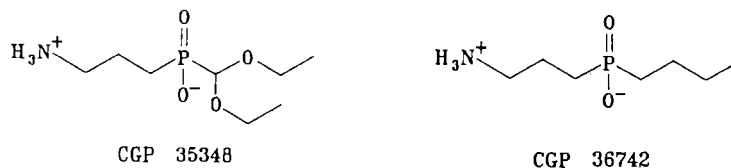


Fig 1 Structures of selected GABA_B receptor antagonists.

结 果

巴氯芬与 CGP₃₅₃₄₈ 对小鼠记忆获得的影响

训练前 60 min 给小鼠 ip 巴氯芬 14 mg·kg⁻¹ 或/和 CGP₃₅₃₄₈ 100 mg·kg⁻¹ (以下剂量均同), 24 h 后测验记忆成绩。结果表明, 巴氯芬可致显著的记忆获得障碍, 能显著增加避暗法中的错误数, 缩短潜伏期; CGP₃₅₃₄₈ 单用对学习记忆无影响, 但明显改善巴氯芬造成的记忆获得障碍, 如表 1 所示。

Tab 1 Effect of baclofen and CGP₃₅₃₄₈ on acquisition of memory in step through tests in mice ($n = 10$, $\bar{x} \pm s$)

Group	Mean number of errors		Latencies(s)
	Learning	Testing	
NS	2.2 ± 1.5	0.9 ± 0.7	247.0 ± 58.4
BAL	2.4 ± 1.4	2.0 ± 0.7**	145.6 ± 66.0**
CGP ₃₅₃₄₈	2.1 ± 0.7	1.0 ± 0.7	248.5 ± 59.7
BAL + CGP ₃₅₃₄₈	2.2 ± 0.6	1.2 ± 0.6 [△]	210.3 ± 57.3 ^{△△}

NS(normal saline, 0.1 ml/10 g, ip); BAL(baclofen, 14 mg·kg⁻¹, ip); CGP₃₅₃₄₈ (100 mg·kg⁻¹, ip); all drugs were given before training; ** $P < 0.01$ vs NS, [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$ vs BAL.

巴氯芬、CGP₃₅₃₄₈ 对小鼠记忆巩固的影响

将小鼠随机分为 4 组, 在跳台训练后即刻给药, 24 h 后测验记忆巩固成绩, 结果显示巴氯芬可造成显著的记忆巩固障碍, CGP₃₅₃₄₈ 对巴氯芬所致的记忆巩固障碍有明显改善作用, 并显著减少小鼠在跳台测验中的错误数, 延长潜伏期(表 2)。

CPG₃₅₃₄₈、CGP₃₆₇₄₂ 对 NaNO₂ 造成小鼠记忆巩固障碍的影响

将小鼠随机分为 4 组, 在跳台训练后立即给 NS 或 NaNO₂ 处理的小鼠 ip CGP₃₅₃₄₈ 或 ig CGP₃₆₇₄₂ 50 mg·kg⁻¹ (以下剂量同), 24 h 后测验记忆巩固成绩。结果表明, CGP₃₅₃₄₈ 和 CGP₃₆₇₄₂ 均能显著改善 NaNO₂ 造成的记忆巩固障碍(表 2)。

巴氯芬、CPG₃₅₃₄₈ 对小鼠记忆再现的影响

将小鼠随机分为 4 组, 在避暗训练后 24 h, 测验前 60 min 给药, 然后测验记忆再现成绩。结果表明, CGP₃₅₃₄₈ 可显著改善巴氯芬造成的记忆再现障碍(表 3)。

Tab 2 Effect of baclofen, CGP₃₅₃₄₈ and CGP₃₆₇₄₂ on consolidation of memory in step down tests in mice

Group	n	Mean number of errors($\bar{x} \pm s$)		Latencies(s)
		Learning	Testing	
NS	11	1.6 ± 0.7	0.2 ± 0.4	280.2 ± 47.7
BAL	10	1.5 ± 1.0	1.2 ± 0.8 ^{**}	165.1 ± 117.0 [*]
CGP ₃₅₃₄₈	10	1.5 ± 0.7	0.3 ± 0.7	285.1 ± 39.9
BAL + CGP ₃₅₃₄₈	10	1.4 ± 0.5	0.4 ± 0.5 [△]	270.2 ± 55.8 [△]
NS + NS	10	1.7 ± 0.7	0.3 ± 0.5	267.9 ± 64.1
NaNO ₂ + NS	10	1.6 ± 0.7	1.4 ± 0.7 ^{***}	171.4 ± 105.4 ^{**}
NaNO ₂ + CGP ₃₅₃₄₈	10	1.5 ± 0.5	0.4 ± 0.5 ^{△△}	268.0 ± 53.4 [△]
NaNO ₂ + CGP ₃₆₇₄₂	11	1.5 ± 0.5	0.4 ± 0.5 ^{△△△}	271.0 ± 47.2 [△]

NaNO₂ (125 mg·kg⁻¹, sc), CGP₃₆₇₄₂ (50 mg·kg⁻¹, ig): other drugs were the same as Tab 1.

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs NS(or NS + NS); [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$, ^{△△△} $P < 0.001$ vs BAL(or NaNO₂ + NS).

CGP₃₅₃₄₈及 CGP₃₆₇₄₂对 30%乙醇造成小鼠记忆再现障碍的影响

将小鼠随机分为 4 组, 在避暗训练后 24 h, 测验前 60 min, 分别给 NS 或 30%乙醇处理的小鼠 CGP₃₅₃₄₈ 或 CGP₃₆₇₄₂, 然后测验记忆再现成绩。结果表明, CGP₃₅₃₄₈ 和 CGP₃₆₇₄₂ 均能显著改善 30%乙醇所致的记忆再现障碍(表 3)。

Tab 3 Effect of baclofen, CGP₃₅₃₄₈ and CGP₃₆₇₄₂ on retrieval of memory in step through tests in mice

Group	n	Mean number of errors($\bar{x} \pm s$)		Latencies(s)
		Learning	Testing	
NS	10	2.6 ± 0.5	0.8 ± 0.8	235.5 ± 51.8
BAL	11	2.5 ± 0.8	1.9 ± 0.9 ^{**}	175.8 ± 76.2
CGP ₃₅₃₄₈	11	2.5 ± 0.9	0.9 ± 0.7	244.1 ± 59.8
BAL + CGP ₃₅₃₄₈	11	2.5 ± 0.5	1.0 ± 0.8 [△]	234.7 ± 65.1
NS + NS	11	2.8 ± 0.8	0.9 ± 0.8	254.3 ± 52.9
NS + Alcohol	12	2.8 ± 0.9	2.2 ± 1.3 ^{**}	160.8 ± 87.1 ^{**}
CGP ₃₅₃₄₈ + Alcohol	12	2.9 ± 1.1	1.3 ± 0.9 [△]	230.5 ± 58.5 [△]
CGP ₃₆₇₄₂ + Alcohol	12	2.7 ± 0.5	1.1 ± 0.8 [△]	233.6 ± 62.3 [△]

Alcohol(30% 0.1 ml/10 g, ig), other drugs were the same as Tab 2. ** $P < 0.01$ vs NS(or NS + NS); [△] $P < 0.05$ vs BAL(or NS + alcohol).

讨 论

GABA 通过 GABA_A, GABA_B 和 GABA_C 3 种受体起作用, GB-R 广泛分布于中枢神经系统。GB-R 激活可抑制多种神经递质、介质的释放。GB-R 拮抗剂的应用颇受国际关注, 推测可用于抗癫痫、抗抑郁并有神经保护作用。较早的 GB-R 拮抗剂如 3APS(3-aminopropane sulphonic acid), 选择性差, 对 GABA_A 受体有激动作用。Phaclofen [4-(chlorophenyl)-3-aminopropyl-phosphonic acid] 和 2-OH-saclofen 可选择性作用于 GB-R, 但不能穿透血脑屏障。新的 GB-R 拮抗剂正在不断合

成^[8]。

CGP₃₅₃₄₈是新型的第一个可穿透血脑屏障的 GB-R 拮抗剂,但与 GB-R 亲和力低,整体实验用量大。改进 CGP₃₅₃₄₈结构得到更新的 GB-R 拮抗剂如 CGP₃₆₇₄₂,整体实验剂量减少且口服有效。1993年有人报道 CGP₃₅₃₄₈可改善东莨菪碱所致的记忆障碍。我们初步结果与此相符(数据未列出)。本结果首次发现该药还可改善乙醇及 NaNO₂引起的记忆再现、巩固障碍,并发现 CGP₃₆₇₄₂剂量较 CGP₃₅₃₄₈减少一半时有同样作用,且口服有效,表明 CGP₃₆₇₄₂更有实用前景。

GB-R 拮抗剂改善学习记忆障碍的原因可能在于促进多种神经递质如谷氨酸(Glu)、去甲肾上腺素、乙酰胆碱等的释放,并协同上述系统;已知中枢胆碱能、去甲肾上腺素能功能增强可促进记忆,海马、大脑皮质 Glu 在一定范围内释放增多亦可促进记忆,而中枢多种递质系统的功能协调是记忆正常的必要条件。GB-R 拮抗剂尚可降低慢抑制性突触后电位,强化海马长时程突触增强(LTP),增加神经元的兴奋性,加快脑信息处理过程,在学习记忆中应起一定作用。此外,我们新近工作表明,GB-R 拮抗剂可升高大脑皮质、海马的 cAMP 水平。cAMP 水平升高可维持海马 LTP,并可促进与学习记忆有关的 c-fos 基因表达而促进记忆^[9]。GB-R 拮抗剂改变信号传导后是否后继蛋白质合成变化,有待研究。

GABA_A受体拮抗剂可改善记忆障碍,但可产生惊厥,而 GB-R 拮抗剂不产生行为改变,表明 GB-R 拮抗剂不良反应小。本文结果提示 GB-R 拮抗剂有望成为新型的副作用小的抗老年性痴呆的药物。

致谢 感谢瑞士 Ciba-Geigy 公司惠赠 GB-R 拮抗剂。

参 考 文 献

- 1 Bowler NG. GABA_B receptor pharmacology. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, 1993, **33**:109
- 2 Castellano C, Brioni JD, Nagahara AH, *et al.* Post-training systemic and intra-amygdala administration of the GABA_B agonist baclofen impairs retention. *Behav Neural Biol*, 1989, **52**:170
- 3 Castellano C, McGaugh JL. Oxotremorone attenuates retrograde amnesia induced by post-training administration of GABAergic agonists muscimol and baclofen. *Behav Neural Biol*, 1991, **56**:25
- 4 DeSousa NJ, Beninger RJ, Jhamandas K, *et al.* Stimulation of GABA_B receptors in the basal forebrain selectively impairs working memory of rats in the double Y-maze. *Brain Res*, 1994, **641**:29
- 5 Georgiev VP, Yonkov DI, Kambourova TS. Interactions between angiotensin II and baclofen in shuttle-box and passive avoidance performance. *Neuropeptides*, 1988, **12**:155
- 6 Bianchi M, Panerai AE. Reversal of scopolamine-induced amnesia by the GABA_B receptor antagonist CGP₃₅₃₄₈ in the mouse. *Cognitive Brain Res*, 1993, **1**:135
- 7 张均田, 斋藤 洋. 十二种化学药物破坏小鼠被动回避性行为 - 跳台试验和避暗试验的作用的比较观察. *药理学报*, 1986, **21**:12
- 8 Bittiger H, Froestl W, Mickel SJ, *et al.* GABA_B receptor antagonists: from synthesis to therapeutic application. *Trends Pharmacol Sci*, 1993, **14**:391
- 9 Divish MM, Sheltel G, Boyle A, *et al.* Differential effect of lithium on protooncogene expression mediated by receptor and postreceptor activators of protein kinase C and cyclic adenosine monophosphate: model for its antimanic action. *J Neurosci Res*, 1991, **28**:40

IMPROVEMENT OF LEARNING AND MEMORY FUNCTIONS BY GABA_B RECEPTOR ANTAGONISTS IN MICE

ZF Yu^{*}, BR Hu and GJ Cheng^{**}

(*Department of Pharmacology, ** Cancer Institute, Sun Yat-Sen University of
Medical Sciences, Guangzhou 510089*)

ABSTRACT In one trial passive avoidance response in mice, the effects of γ -aminobutyric acid (GABA)_B receptor agonist baclofen and antagonist CGP₃₅₃₄₈ and CGP₃₆₇₄₂ on acquisition, consolidation and retrieval of memory were observed. The results showed that the antagonists could significantly promote the acquisition impairment induced by baclofen, the consolidation impairment induced by baclofen and NaNO₂, and the retrieval impairment induced by baclofen and 30% alcohol. These results suggest that the GABA_B receptor antagonists may become a novel type of drug for the treatment of Alzheimer's disease.

Key words γ -Aminobutyric acid_B receptor antagonist; Learning; Memory

^{*} Present address: State Key Laboratory of Medical Neurobiology, Shanghai Medical University, Shanghai 200032, P. R. China.