

精氨酸加压素类似物对大鼠学习记忆的促进作用^{1,2}刘仁义、林超³、杜雨苍³(中国科学院上海脑研究所, ³中国科学院上海生物化学研究所, 上海 200031, 中国)Facilitation of arginine-vasopressin analogs on learning and memory in rats^{1,2}LIU Ren-Yi, LIN Chao³, DU Yu-Cang³(Shanghai Brain Research Institute and ³Shanghai Institute of Biochemistry, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

ABSTRACT Adult rats were trained in a maze for brightness discrimination (BD) or in a shuttle box for active avoidance. It was found that the pretreatment of 1-desamino-8-D-arginine-vasopressin (DDAVP) enhanced the retention of brightness discrimination and retarded the extinction of avoidance response. Neonatal daily administration for 14 d of both 9-desglycylamide-DDAVP (DGDDAVP) or 2-desstyrosyl-3-desphenylalanyl-9-desglycylamide-AVP (AVP₁₋₉), but not D-arginine-AVP₁₋₉ (D-AVP₁₋₉) showed significant facilitation on acquisition and subsequent maintenance of BD in adult rats. The results indicate that some of synthetic arginine-vasopressin analogs may directly act on CNS and consequently affect learning behaviors in rats.

KEY WORDS vasopressins; peptides; discrimination learning; retention (psychology); avoidance learning; extinction (psychology)

摘要 DDAVP 能提高大鼠迷宫光亮分辨反应的记忆保存和延缓大鼠条件性穿梭反应的消退。连续 2 wk 给 DGDDAVP 或 AVP₁₋₉ 于新生大鼠, 其迷宫光亮分辨反应的学习能力和记忆保存都有明显的提高, 但同剂量 D-AVP₁₋₉ 则无明显增进记忆的效应。结果提示 AVP₁₋₉, DGDDAVP 和 DDAVP 等肽可能

Received 1989 Feb 18 Accepted 1989 Oct 18

¹Project supported by the National Natural Science Foundation (No 9389007) and Academia Sinica (No 87-05-01)

²Portions of this work were briefly presented at the China-US Neuroscience Conference, Shanghai, 1986 Jun 7-11.

是直接作用于中枢神经系统而影响学习记忆行为的。

关键词 加压素; 多肽; 辨别学习; 保持(心理学); 回避学习; 消退

加压素(vasopressin)可能在记忆过程中起重要作用⁽¹⁾, 它能延缓大鼠的主动回避反应的消退, 促进被动回避反应的巩固^(2,3)。加压素类似物(1-去氨基-8-D-精氨酸加压素(1-desamino-8-D-arginine-vasopressin, DDAVP)没有增血压的活性, 但仍有很强的促进记忆效应^(4,5), 酶解去除 C 端甘氨酸的衍生物 9-去甘氨酸-8-赖氨酸加压素(9-desglycylamide-8-lysine-vasopressin, DGLVP)丧失了加压素的全部内分泌活性, 但保留了其行为效应⁽⁶⁾。精氨酸加压素(arginine-vasopressin, AVP)经大鼠脑细胞膜上的肽酶转化成一系列片段, 其中焦谷酰门冬酰氨酰氨酰脯氨酰精氨酸(AVP₁₋₉)不仅没有 AVP 的外周生理效应, 而且其行为作用比 AVP 强得多^(7,8)。本文报道了 AVP 类似物 DDAVP 对于成年鼠记忆过程及 9-去甘氨酸 DDAVP(DGDDAVP), AVP₁₋₉, 和 D-精氨酸 AVP₁₋₉(D-AVP₁₋₉)等对新生大鼠学习和记忆的影响。

MATERIALS AND METHODS

4 月龄成年♂杂种大鼠和♀♂新生大鼠均由中国科学院上海分院实验动物中心供应。

AVP 类似物和 DDAVP, DGDDAVP, AVP₁₋₉, 以及 D-AVP₁₋₉ 皆由本实验室按前文⁽⁴⁾方法或加以少量修改的方法合成。产物皆经逆相高压液相层析纯化并鉴定为单纯化合物, 具体合成过程将另文发表。

条件性穿梭反应是在用辐射式 Y 形迷宫箱

改装而成的双电击箱中进行,以蜂鸣器声音作条件刺激,以电刺激(scrambled foot-shock, 0.7 mA)作为非条件刺激,建立条件性穿梭反应。每天进行20次测试,当大鼠连续3d出现阳性条件反应16次以上即认为达到标准,次日即可开始进行消退实验,即每天只给10次条件刺激而不结合非条件刺激,连续进行2wk实验。

迷宫光亮分辨实验在三等分辐射式迷宫箱中进行⁽⁹⁾,箱的臂顶端各有一个信号灯,箱底由铜棒组成,可以通电引起大鼠回避反应,灯光信号示安全区,不通电,安全区方位随机变换。实验开始时,先将大鼠放在任一臂,另一臂中任何一臂呈现灯光后5s给大鼠施加电击(scrambled foot-shock, 0.7 mA),直至大鼠逃到安全区后停止通电,灯光继续作用10s,熄灯后结束一次测试。大鼠所在支臂就作为下一次测试的起点,两次测试的时间间隔为20-30s。连续20次测试中有17次或以上反应正确者作为达到标准。达到标准后的大鼠随机分成两组,分别立即sc DDAVP等肽或等容量生理盐水,30d后以同法测试检查大鼠迷宫光亮分辨反应的保存。

RESULTS

DDAVP对成年大鼠学习记忆能力的影响

1 延缓条件性穿梭反应的消退 ♂大鼠15只,体重 $267 \pm SD 25$ g,4月龄,随机分成两组,首先在迷宫箱中进行学习训练,并自d1实验前1h分别sc DDAVP 0.8 μ g/0.2 ml或0.2 ml生理盐水,以后隔日sc,直至消退实验结束当连续3d阳性条件反应出现在80%,然后进行消退实验,所得结果显示,对照组大鼠阳性条件反应出现率随消退实验次数的增加而逐渐减少,消退实验进行到d14时,阳性条件反应出现率已降至20%左右。而实验组大鼠在14d的消退实验中,阳性条件反应出现率始终保持在80%以上。休息16d后,实验组大鼠阳性条件反应出现率仍在80%以上

(Fig 1)。说明sc DDAVP确能提高成年大鼠的记忆能力。此外,两组大鼠在建立条件性穿梭反应的速度上没有差别,DDAVP组大鼠需 3.9 ± 2.0 d达到标准,而对照组需 4.6 ± 2.0 d,两组比较 $P > 0.05$;说明DDAVP未能提高成年大鼠的学习能力。

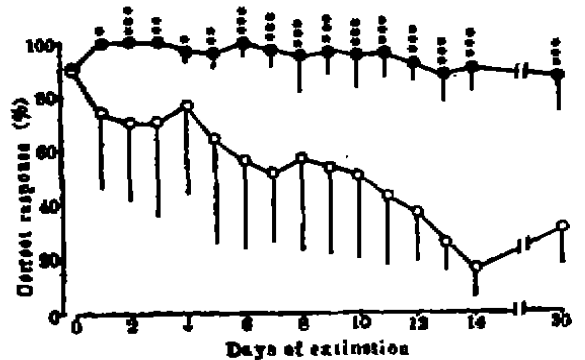


Fig 1. Effects of sc DDAVP on the extinction of shuttle avoidance behavior in adult rats. (●) DDAVP 0.8 μ g/rat every other day in both acquisition and extinction test ($n=8$). (○) saline 0.2 ml ($n=7$). Trials to criterion of 80% correctness out of 20 trials (in acquisition) and 10 trials (in extinction). $\bar{x} \pm SD$, * $P > 0.05$, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$.

2 提高迷宫光亮分辨反应的保存, ♂成年大鼠20只,体重 251 ± 20 g,4月龄,在迷宫中进行光亮分辨反应测试,达到连续20次中17次正确反应标准后,随机分成两组,每组10只。分别sc生理盐水0.5 ml或DDAVP 2 μ g/0.5 ml。30d后测试其记忆保存。DDAVP组大鼠光亮分辨反应达到标准只需 3 ± 5 次,而对照组需 15 ± 10 次,DDAVP组大鼠迷宫光亮分辨反应的记忆保存明显优于对照组 $P < 0.05$ 。

AVP_{1-8}}, DAVP_{1-8}}, DGDDAVP对新生大鼠学习记忆能力的影响

1 AVP_{1-8}}提高幼年大鼠的学习记忆能力 新生大鼠52只随机分成3组,同胎新生大鼠均匀分布到3个组中,自出生d1起分别每天sc生理盐水50 μ l, AVP_{1-8}} 0.03 μ g/50 μ l或0.1 μ g/50 μ l,连续注射2wk,停止注射

后 30 d, (此时大鼠为 45 d 龄), 学习光亮分辨反应, 结果见 Tab 1. 注射 $DAVP_{1-8}$ 0.1 μg 组大鼠达到 20 次测试中 17 次正确的标准明显快于对照组, 对照组达到标准需测试 17 ± 7 次, 而 0.1 μg 组大鼠只需 10 ± 6 次, 两组比较 $P < 0.01$. 表明连续 2 wk sc 0.1 μg AVP_{1-8} 于新生大鼠能显著地提高其幼年期的学习能力. 当大鼠达 75 d 龄时, 再测试其光亮分辨反应的保存, 注射 AVP_{1-8} 0.03 μg 和 0.1 μg 两组的光亮分辨反应的保存能力明显高于对照组. 对照组达到标准需 6 ± 8 次测试, 0.03 μg 组需 1.1 ± 1.7 次, 0.1 μg 组需 1 ± 2 次, 两组实验组与对照组比较 $P < 0.05$, 表明 AVP_{1-8} 能提高幼年大鼠的记忆能力.

2 DGDDAVP 和 $DAVP_{1-8}$ 对幼年大鼠学习记忆功能的促进作用 新生大鼠 53 只随机分成 3 组, 自出生之日起分别每天 sc 生理盐水 50 μl , DGDDAVP 0.2 $\mu\text{g}/50 \mu\text{l}$, 或 $DAVP_{1-8}$ 0.2 $\mu\text{g}/50 \mu\text{l}$, 连续注射 2 wk, 45 d 时进行光亮分辨反应的学习, 75 d 时进行光亮分辨反应记忆保存的测试. 结果见 Tab 1. DGDDAVP 组大鼠达到标准需学习 14 ± 6 次, 记忆保存测试达到标准需 1.2 ± 1.8 , 对照组大鼠学习达到标准需 22 ± 11 , 记忆保存为 5 ± 5 次, (学习过程 $P < 0.05$, 记忆保存 $P < 0.01$) 表明 DGDDAVP 能提高幼年大鼠的学习和记忆功能. $DAVP_{1-8}$ 组大鼠光亮分辨反应达到标准需学习 26 ± 9 次, 记忆保存为 3 ± 5 次, 与对照组相比, 不论是学习还是记忆保存都无显著差

别, $P > 0.05$.

此外, 我们在实验中观察到实验组与对照组在体重上没有明显差别. 在同一处理组中 σ 与 ρ 大鼠在学习记忆过程中无明显差别.

DISCUSSION

AVP 影响学习记忆活动的实验结果大多是来自跳杆反应和被动回避反应实验模型. 用于灯光分辨反应的实验报道极少. 以前绝大多数报道都认为 AVP 等肽主要影响记忆过程^(1,2), 对学习无明显作用. 我们应用迷宫灯光分辨反应方法发现用 AVP_{1-8} , DGDDAVP 等 AVP 类似物处理新生大鼠, 能提高幼年大鼠的学习记忆功能. 我们在前文⁽¹⁰⁾也报道过用 DDAVP 处理新生大鼠, 也能提高其学习记忆功能. 这些实验结果表明这类肽不仅影响记忆过程, 而且能易化学习活动.

DDAVP 不具有增血压的作用, 但仍有利尿功能. AVP_{1-8} 则两种功效都不具备, 却有很强的促进学习记忆作用. 用 0.1 μg $DAVP_{1-8}$ 处理新生大鼠, 就大大提高幼年大鼠的迷宫光亮分辨反应的学习和记忆保存. 可以认为结果是支持了关于 AVP 是通过中枢神经系统起作用的观点⁽¹¹⁾.

D-精氨酸加压素类似物 $DAVP_{1-8}$ 0.2 μg 处理新生大鼠未能对幼年大鼠的迷宫光亮分辨反应的学习与记忆保存产生影响, 但剂量相同的 DGDDAVP 和剂量更低的 AVP_{1-8} 却有很明显的增进学习记忆功能. 本实验室以后对另

Tab 1. Effects of sc AVP_{1-8} , $DAVP_{1-8}$ and DGDDAVP on the acquisition and extinction of brightness discrimination in newborn rats. Rats were tested in d 45 (acquisition) and d 75 (retention). Trials to criterion of 17 correctness out of 20 consecutive trials. $\bar{x} \pm \text{SD}$, * $P > 0.05$, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$.

Expt	Drug	n	Dose ($\mu\text{g}/\text{rat}$)	Acquisition	Retention
1	Saline	17	(50 μl)	17.2 ± 6.6	5.5 ± 8.2
	AVP_{1-8}	19	0.03	$16.6 \pm 9.2^*$	$1.1 \pm 1.7^{**}$
	AVP_{1-8}	16	0.10	$9.8 \pm 5.9^{***}$	$1.0 \pm 2.0^{**}$
2	Saline	16	(50 μl)	21.5 ± 11.3	5.1 ± 4.7
	$DAVP_{1-8}$	20	0.20	$26.4 \pm 9.2^*$	$3.1 \pm 5.2^*$
	DGDDAVP	17	0.20	$14.2 \pm 6.1^{**}$	$1.2 \pm 1.8^{***}$

一些类似物作了构效测定也看到类似结果, 所以我们认为 DAVP₄₋₆ 没有表现出明显的促学习记忆效应, 可能提示了受体对这类肽的空间构象也有选择作用。进一步实验正在进行中。

REFERENCES

- 1 De Wied D. The influence of the posterior and intermediate lobe of the pituitary and pituitary peptides on the maintenance of a conditioned avoidance response in rats. *Int J Neuropharmacol* 1965; 4 : 157
- 2 De Wied D. Long term effect of vasopressin on the maintenance of a conditioned avoidance responses in rats. *Nature* 1971; 232 : 58
- 3 Bohus B, Ader R, de Wied D. Effects of vasopressin on active and passive avoidance behavior. *Horm Behav* 1972; 3 : 191
- 4 Du YC, Liu RY, Chen ZF, Chen XF. Synthesis of DD-arginine vasopressin and its action on learning and memory. *Chin J Physiol Sci* 1986; 2 : 287
- 5 Walter R, Hoffman PL, Flexner JB, Flexner LB. Neurohypophysial hormones, analogs and fragments: Their effect on puromycin-induced amnesia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72 : 4180
- 6 Burbach JPH, Kovacs GL, de Wied D, van Nispin JW, Greven HM. A major metabolite of arginine vasopressin in the brain is a highly potent neuropeptide. *Science* 1983; 221 : 1310
- 7 Gaffori OJW, de Wied D. Time-related memory effects of vasopressin analogues in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1986; 25 : 1125
- 8 De Wied D, Gaffori O, Burbach JPH, Kovacs GL, van Ree JM. Structure activity relationship studies with C-terminal fragments of vasopressin and oxytocin on avoidance behaviors of rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1987; 241 : 268
- 9 Liu RY, Hsu PH. Effects on learning and memory of electrolytic lesions of hippocampus in rats. *Zool Res* 1982; 3 : 385
- 10 Chen XF, Chen ZF, Liu RY, Du YC. Neonatal administrations of a vasopressin analog (DDAVP) and hypertonic saline enhance learning behavior in rats. *Peptides* 1988; 9 : 717
- 11 Swaab DF, Boer GJ. Neuropeptides and brain development Current perils and future potential. *J Dev Physiol* 1983; 5 : 67

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1990 Mar; 11 (2) : 100-102

锌离子对吡拉西坦促小鼠记忆作用的拮抗¹

朱桐君、陈醒言、潘建春、张士善 (温州医学院药理教研室, 温州 325003, 中国)

Antagonism of Zn²⁺ on nootropic action of piracetam in mice¹

ZHU Tong-Jun, CHEN Xing-Yan, PAN Jian-Chun, ZHANG Shi-Shan
(Department of Pharmacology, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325003, China)

ABSTRACT In mouse step-down test, the memory impairments of acquisition, consolidation and recognition were induced by anisodine,

chloramphenicol and ethanol, respectively. Piracetam 100 mg/(kg·d) ip for 5 d improved the anisodine-induced impairment of learning. ZnSO₄ 5 mg/(kg·d) po for 5 d did not improve the 3 impairments. Memory impairments were enhanced by a combined administration of ZnSO₄ and piracetam in these 3 models. These results were confirmed by Y-maze method in normal mice.

KEY WORDS piracetam; zinc; glutamates; learning; memory

Received 1989 Feb 24 Accepted 1989 Sep 26
¹Project supported by the National Natural Science Foundation of China, No 3861216

摘要 用小鼠跳台法, 分别以樟柳碱、氯霉素及乙醇造成记忆障碍。吡拉西坦 100 mg/(kg·d), ip, 5 d, 仅对樟柳碱所造成的记忆障碍有明显改善, 而硫酸锌