

精氨酸加压素的促记忆效应及其与中脑导水管周围灰质的关系

熊 鹰, 张长城, 张光辉 (第三军医大学生理教研室, 重庆630038, 中国)

Memory-enhancing effects of argipressin and its relationship with periaqueductal gray

XIONG Ying, ZHANG Chang-Cheng, ZHANG Guang-Hui (Department of Physiology, Third Military Medical College, Chongqing 630038, China)

ABSTRACT Wistar rats were trained to perform shuttle-box active avoidance response. In experiment A, 43 rats were implanted cannulae in bilateral periaqueductal gray (PAG) and argipressin (Arg) was injected. Arg 0.15 or 0.3 ng but not 0.05 ng retarded the extinction of avoidance response. In experiment B, 37 rats were set up bilateral electrolytic lesions of PAG or sham lesioned. Arg ($6 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, ip) was injected after training. PAG lesions blocked the influence of ip Arg on memory enhancement. The results indicated that Arg may act directly on CNS to modulated memory and PAG may play an important role in this process. This observation provided further support to the previous suggestion that certain limbic midbrain structures were involved in memory-enhancement by Arg.

KEY WORDS argipressin; periaqueductal gray; avoidance learning; memory

A 摘要 (A) 精氨酸加压素(Arg 0.15, 0.3 ng)注入双侧中脑导水管周围灰质(PAG)显著延缓大鼠穿梭箱主动回避反应的消退($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$), 而 Arg 0.05 ng 无明显影响。(B) 损毁双侧 PAG, 明显阻断 ip Arg ($6 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)对大鼠穿梭箱回避行为的易化作用, 提示外周注射 Arg 可能通过 PAG 而发挥促记忆效应。以

Received 1991-11-27

Accepted 1993-08-14

上结果表明 Arg 对记忆的易化作用与 PAG 密切相关。

关键词 精氨酸加压素; 导水管周围灰质; 回避学习; 记忆

精氨酸加压素(argipressin, Arg)可延缓大鼠主动回避反应的消退, 增强被动回避反应的巩固和再现^[1-3]。Arg 的促记忆效应与海马, 隔区等边缘系统结构关系密切^[4,5]。中脑导水管周围灰质(PAG)与海马, 杏仁核等有广泛的纤维联系^[6]。PAG 中有来自室旁核(PVN)的加压素能纤维投射^[7,8]。我室的实验表明 PAG 参与穿梭箱回避反应的习得过程^[9]。但是 Arg 的促记忆作用是否与 PAG 有关以及损毁 PAG 对 Arg 作用的影响等都未见报道。本实验采用微量注射, 损毁 PAG 等实验方法对此进行探讨。

MATERIALS AND METHODS

大鼠和药品 Wistar 大鼠, 体重 $198 \pm 25 \text{ g}$, ♀♂兼用, 由本校实验动物研究所提供。自由饮水和进食, 适应环境一周后才开始实验。精氨酸加压素(argipressin, Arg), Sigma 公司产品, 实验前用生理盐水(NS)配成所需浓度 ip 或 intra PAG。

导管的埋置和微量注射 用戊巴比妥钠($40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, ip)麻醉大鼠。参照图谱^[10]于双侧 PAG 内埋植带芯的导管, 定位坐标为: A 5.5-6.5, LR 0.5-1.0, H 4.5-5.5。术后5 d 开始行为实验。作微量注射时, 先拔出套管芯, 注射内管下端超出套管0.5 mm, 另一端经塑料管与微量进样器连接, 注射药物时间不少于2 min。

PAG 损毁 在双侧 PAG 各埋置尖端裸露的绝缘电极(外径0.5 mm)一个, 通以2 mA 电流30 s。假手术组除不通电外, 其它操作一样。

行为训练 采用穿梭箱(shuttle-box)主动回避反应训练法。穿梭箱为50 cm×30 cm×20 cm大小,内分A、B两室,室间有拱形小门相通。箱底由15根铜棒(直径4.5 mm)组成,可通交流电(50 Hz, 0.5 mA)产生足电震(footshock),作为非条件刺激。两室各装一灯(15 W),以灯光为条件刺激。实验时,先将大鼠置于A室内适应5 min,然后灯亮5 s(此时B室不亮),若大鼠不逃至B室,则给予电击5 s,使鼠逃到B室。间隔15-30 s后,B室灯亮(此时A室不亮),训练方法同上。以灯亮后大鼠自动跑至暗室为正确回避反应。每天训练25次。以正确反应率连续3 d达到80%以上为学会标准。然后进行消退实验,即只给灯光,不给电击,观察大鼠主动回避反应的消退情况,以消退延缓为记忆增强的指标。以上实验均在避光和安静的环境中进行。

注射部位的鉴定 实验结束后,经埋植导管注入膀胱天蓝(pontamine sky blue),然后取出鼠脑,置10%甲醛溶液中。固定7 d后,切成1 mm厚的脑片。根据蓝点以确定注射部位。鉴别损毁部位,则直接取出鼠脑固定在10%甲醛溶液中,经切片核实。

实验数据均用t检验进行统计学处理。

RESULTS

双侧 PAG 内注射 Arg 对大鼠穿梭箱回避反应消退的影响 将达到标准的大鼠随机分为4组(n=10-12),分别于每侧 PAG 内注入 Arg (0.05, 0.15, 0.3 ng) 1 μl 或 NS 1 μl,连续注射3 d,然后测试各鼠在注药后 d 7, d 14, d 20 记忆消退情况。注入 Arg 0.15 和 0.3 ng 的两组大鼠的穿梭箱回避反应保存能力明显高于对照组,而 Arg 0.05 ng 组和对照组主动回避反应无显著差异(Tab 1)。这些结果表明 PAG 内注入 Arg 可延缓大鼠的记忆消退,并且此效应与 Arg 的剂量有关。

损毁 PAG 对外周注射 Arg 促记忆效应的影响 损毁组(lesion)和假手术组(sham)达到学会标准后,分别 ip Arg 6 μg·kg⁻¹ 或 NS 0.2 ml,连续注射3 d,然后观察2, 4, 6, 8, 10 d 的主动回避反应。结果(Fig 1)表明,在假手术组, ip Arg 与 ip NS 相比,主动回避反应消

Tab 1. Effects of argipressin (Arg 0.05, 0.15, 0.3 ng) injected into bilateral periaqueductal gray on extinction of shuttle-box active avoidance response in rats tested for retention on d 7, d 14, and d 20 after Arg injection. $\bar{x} \pm s$, * $P > 0.05$, ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$ vs saline.

Arg/ng	n	Correct response rate/%			
		d 0	d 7	d 14	d 20
0.05	11	81±9 ^a	51±7 ^a	31±5 ^a	11±2 ^a
0.15	12	81±7 ^a	74±10 ^b	66±9 ^b	50±6 ^b
0.30	10	82±9 ^a	80±10 ^c	76±8 ^c	63±8 ^c
Saline	10	82±9	48±8	29±6	11±3

退明显延缓;在损毁组, ip Arg 与 ip NS 比较,穿梭箱回避反应无显著差别;假手术组与损毁组比较,无论 ip Arg 还是 ip NS,损毁大鼠主动回避反应的保持均明显低于假手术大鼠。以上结果表明, ip Arg 可延缓主动回避反应的消退,损毁 PAG 阻断 Arg 的这一效应。

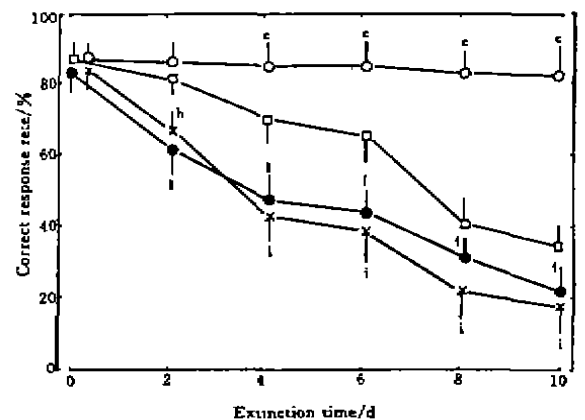


Fig 1. Extinction of shuttle-box behavior in rats with bilateral lesions of PAG. When rats (lesioned and sham-lesioned) met the criterion of 80% correctness, ip Arg (6 μg·kg⁻¹) or saline (0.2 ml) were given. Sham-Arg (○, n=10); lesions-Arg (●, n=10); lesions-saline (×, n=8); sham-saline (□, n=9). * $P < 0.01$ vs sham-saline; ^c $P < 0.01$ vs sham-Arg; ^b $P < 0.05$, ^a $P < 0.01$ vs sham-saline.

DISCUSSION

加压素的促记忆效应是其直接作用于中枢神经系统的结果¹¹⁻⁵。本实验观察到,微量 Arg 0.15, 0.3 ng 注入双侧 PAG 可延缓穿梭箱主动回避反应的消退,由于给药的剂量仅为外周给药量的几千分之一,因此 Arg 不可能到外周起作用,而是直接在 PAG 内发挥其延缓记忆消退的效应。本实验还观察到,ip Arg (6 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)也可延缓大鼠主动回避反应的消退,损毁 PAG 后,此种效应消失,说明外周注射 Arg 可能通过中枢而起作用,并且与 PAG 密切相关。

加压素主要是由下丘脑的室旁核(PVN)、视上核(SON)和视交叉上核(SCN)分泌^{17,11}。除下丘脑-神经垂体通路外,现已证实加压素能纤维在下丘脑以外的其它脑区有大量分布,其中与学习记忆关系密切的边缘系统是 Arg 纤维主要的投射区¹⁸⁻¹²。PAG 是边缘中脑的重要结构,其加压素能纤维主要来自 PVN 的投射^{17,81}。Dubois 的实验提示 PAG 中有加压素的结合位点¹³。Fliers 用细胞免疫化学的方法证实老龄鼠 PAG 中加压素能纤维密度明显低于年轻鼠¹⁴,推断老年记忆减退可能与 PAG 中 Arg 纤维减少有关。迄今尚未见有关 PAG 的加压素能传递对条件性回避反应作用的报道。本实验采用脑内注射,损毁等方法表明 ip 或 intra-PAG Arg 均有促记忆效应,而 ip Arg 的作用可被损毁 PAG 抵消,这一事实说明,大鼠 PAG 的加压素能传递在穿梭箱主动回避反应的调控中起重要作用。下一步的工作将围绕加压素受体以及有关的神经通路进行。

REFERENCES

1 Koob GF, Dantzer R, Bluthé RM, Lebrun C, Bloom FE, Le Moal M. Central injections of arginine vasopressin

prolong extinction of active avoidance.

Peptides 1986; 7: 213-18.

- 2 Liu RY, Lan C, Du YC. Facilitation of arginine vasopressin analogs on learning and memory in rats. Acta Pharmacol Sin 1990; 11: 97-100.
- 3 Mei ZT, Duan SH. Central sites for the facilitating effects of arg-vasopressin (AVP) on learning process in rats. Chin J Physiol Sci 1991; 7: 99-103.
- 4 Kovács GL, Bohus B, Versteeg DHG, de Kloet ER, de Wied D. Effect of oxytocin and vasopressin on memory consolidation; sites of action and catecholaminergic correlates after local microinjection into limbic-midbrain structures. Brain Res 1979; 175: 303-14.
- 5 Dantzer R, Koob GF, Bluthé R-M, Le Moal M. Septal vasopressin modulates social memory in male rats. Brain Res 1988; 457: 143-7.
- 6 Isaacson RL. *The limbic system*. 2nd ed. New York; Plenum Press, 1982; 51-78.
- 7 Buijs RM. Immunocytochemical demonstration of vasopressin and oxytocin in the rat brain by light and electron microscopy. J Histochem Cytochem 1980; 28: 357-60.
- 8 Sofroniew MV. Vasopressin, oxytocin and their related neurophysins. In: Björklund A, Hökfelt T, editors. Handbook of chemical neuroanatomy; Vol 4. GABA and neuropeptides in the CNS. Part 1. Amsterdam; Elsevier Press, 1985; 93-185.
- 9 Xiao LY, Zhang CC. The role of periaqueductal gray (PAG) in shuttle-box conditioned avoidance behavior in rat. J Southwest Chin Teach Univ (Natural Science) 1991; 16: 368-72.
- 10 Pellegrino LJ, Pellegrino AS, Cushman AJ. A stereotaxic atlas of the rat brain. 2nd ed. New York; Plenum Press, 1979; 30-65.
- 11 Hoorneman EMD, Buijs RM. Vasopressin fiber pathways in the rat brain following suprachiasmatic nucleus lesioning. Brain Res 1982; 243: 235-41.
- 12 Hess J, Lesser D, Landgraf R. Vasopressin and oxytocin in brain areas of rats selectively bred for differences in behavioral performance. Brain Res 1992; 569: 106-11.
- 13 Dubois-Dauphin M, Pevet P, Tribollet E, Dreifuss JJ. Vasopressin in the brain of the golden hamster: the distribution of vasopressin binding sites and of immunoreactivity to the vasopressin-related glycopeptide. J Comp Neurol 1990; 300: 535-48.
- 14 Fliers E, De Vries GJ, Swaab DF. Changes with aging in the vasopressin and oxytocin innervation of the rat brain. Brain Res 1985; 348: 1-8.