

脂多糖激活所致大鼠抑郁样行为及对海马神经细胞钾电流变化的影响*

池少鹏^{1,2,3} 戚智⁴ 姬广聚³ 邝雪莹¹ 林文娟¹

(¹中国科学院心理健康重点实验室, 中国科学院心理研究所, 北京 100101) (²中国科学院研究生院, 北京 100039)
(³中国科学院生物物理研究所, 生物大分子国家重点实验室, 北京 100101) (⁴厦门大学医学院基础部, 厦门 361005)

摘要 采用细胞因子刺激剂脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)为免疫激活手段, 研究 LPS 诱导的免疫激活产生的抑郁样行为及对海马神经细胞电压依赖钾电流变化的影响。应用膜片钳技术对海马神经细胞钾电流进行全细胞记录, 比较抑郁样行为大鼠与正常大鼠钾离子通道电流密度和激活特性的变化。结果发现, 与生理盐水对照组相比, 一次 LPS 注射后 2 hr, 实验组动物产生抑郁样行为, 同时急性观察的海马神经细胞的钾离子通道的电流密度呈现显著升高($p < 0.01$); 而一次 LPS 注射后 24 hr, 动物的抑郁样行为消失, 且急性观察的海马神经细胞的钾离子通道与对照组相比较, 其电流密度和激活曲线没有显著性变化。结论: LPS 诱导的抑郁样行为, 与 LPS 诱导的海马神经细胞电压依赖钾电流的上调在时程上同步, 提示钾离子通道可能参与免疫激活所致的抑郁样行为。

关键词 脂多糖; 抑郁样行为; 海马神经细胞; 电压依赖钾通道

分类号 B845

1 引言

抑郁症被称为世界头号公共健康问题, 由抑郁症引发的后果是相当严重的, 近一半的抑郁症病人的行为能力受损, 并且给社会和经济造成了很大的损失(Kessler et al., 2003; Spijker et al., 2004)。抑郁症病人具有自杀倾向, 其死亡率非常高(Bostwick & Pankratz, 2000; Cuijpers & Smit, 2002)。对抑郁症的病因和机制的探讨是治疗和预防抑郁障碍的必要途径。以往的工作多集中在五羟色胺系统功能失调和神经传递的减少参与了抑郁症的病理生理学和抗抑郁药的机理研究(Elhwuegi, 2004; Hensler, 2003)。尽管现有的抗抑郁药对部分患者有效, 但是它们的副作用大, 而且这些研究不能解释所有抑郁障碍患者的症状机制(Belmaker & Agam, 2008; Berton & Nestler, 2006)。

抑郁症的发病机理比较复杂, 是由多种因素参

与的心理、病理生理过程。免疫激活诱导的细胞因子可能是其中的重要的致敏因素。近年来, 研究者发现抑郁与免疫功能异常有密切联系。机体接受免疫应激后, 会引起免疫炎症反应, 动物表现为快感缺失、自主活动下降和探索行为下降等抑郁样行为(Dantzer, O'Connor, Freund, Johnson, & Kelley, 2008; 潘玉芹, 王东林, 林文娟, 2007), 但免疫炎症激活致抑郁的分子机制至今并不清楚。潘玉芹和林文娟(2006)报道, 抑郁症患者中海马体积选择性缩小, 并且海马的功能活动与抑郁症的症状有关。抑郁症患者也表现出海马内神经元细胞凋亡增加(Lucassen et al., 2001)。神经细胞的凋亡伴随着 caspase 激活前的 p38 依赖性的电压门控的钾离子电流的增加(McLanghlin et al., 2001)。电压依赖型钾离子通道(voltage-dependent potassium channels, K_v)广泛分布于中枢神经系统, 在神经细胞兴奋性的调节中起着非常重要的作用(Hille, 2001)。近年来

收稿日期: 2011-08-08

* 国家自然科学基金项目(30770718, 31170987)和中国科学院知识创新项目(KSCX2-2-03, KSCX2-EW-J-8)资助。

通讯作者: 林文娟, E-mail: linwj@psych.ac.cn

研究还发现很多神经系统疾病与各种类型的钾离子通道基因的突变相关,例如:与凋亡、肿瘤的形成以及神经退行性疾病有很大关系。在对培养的皮层神经元诱发凋亡时发现,在细胞凋亡的早期,延迟整流型(Delayed rectifier potassium current)K⁺电流持续增强;K⁺通道阻断剂可明显抑制细胞的凋亡,并且K⁺通道开放剂可诱导凋亡,表明钾电流增强是神经元凋亡发生的重要机制之一(Yu et al., 1997)。早期研究证明,多种类型的钾离子通道阻断剂在动物模型中具有抗抑郁作用(Kaster, Ferreira, Santos, & Rodrigues, 2005)。海马神经细胞中分布着多种不同类型的钾离子通道,它们是否与免疫炎症激活致抑郁有关尚未见报道。

为探索炎症免疫导致抑郁症的分子机理,必需首先建立有效和国际公认的行为模式。通过外周给动物注射细胞因子刺激剂脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱发抑郁样行为是常用的方法之一(Franklin, Engeland, Kavaliers, & Ossenkopp, 2003; Frenois et al., 2007)。Dantzer 等人(2008)发现, LPS 作为免疫激活剂和细胞因子诱导剂,能快速启动固有免疫系统的激活和炎症细胞因子的释放。这些炎症细胞因子间接或直接地作用于大脑,诱导动物产生一系列的类似于人类抑郁症的行为反应。因此, LPS 模型已成为研究免疫活动在抑郁症病理机制中作用的最常用模型之一,具有较高的表面效度(症状相似性)、结构效度(病理相似性)和预测效度(疗效相似性)(De La Garza, 2005)。我们以往工作也证明, 200 μg/kg 剂量的 LPS 能在一次注射后 2 hr 很快激活炎症细胞因子的释放,有效引起大鼠的抑郁行为,但是注射 24 hr 后,炎症细胞因子和抑郁行为基本恢复正常(Wang et al., 2011; 邝雪莹等, 2011; 潘玉芹等, 2007)。说明 LPS 免疫激活的细胞因子能够导致大鼠出现明显的抑郁样行为,但是缺乏长时程效应,其机理尚不清楚。

本研究在以往工作基础上建立免疫激活诱导的“抑郁”模型,采用全细胞膜片钳技术,观察了大鼠海马神经细胞上钾离子通道的变化,以探讨钾离子通道在免疫激活导致抑郁障碍中可能的分子机制。

2 材料与方 法

2.1 实验动物

健康成年 Sprague-Dawley 雄性大鼠 32 只,体重约 240 g,购自维通利华实验动物中心。大鼠在光

/暗周期各为 12 hr/12 hr 的条件下单笼喂养,除糖精水测验期,可自由饮水和进食。室温为 22℃ 左右,相对湿度为 40%~70%,实验前给予大鼠 7 d 的适应期,每天抚摸 3 min。

2.2 实验程序和分组

实验包括两个部分:行为学实验和膜片钳实验。实验一观察 LPS 对大鼠抑郁样行为的作用。20 只大鼠随机分为两组:LPS 组(10 只),该组接受 LPS (浓度为 200 μg/kg)腹腔注射;对照组(10 只),进行腹腔无菌生理盐水注射;大鼠在注射后 2 hr 和 24 hr 分别测其行为指标。实验二观察 LPS 对海马神经细胞钾电流的影响。12 只大鼠随机分为三组:LPS 2 hr 组, LPS 24 hr 组和对对照组(生理盐水 2 hr 与生理盐水 24 hr 合并),各组 4 只大鼠。大鼠分别接受与实验一完全相同的处理,但不测行为,分别在 LPS 注射后 2 hr 和 24 hr 取脑并分离出海马神经细胞进行体外培养和电生理实验。神经细胞钾电流的变化又分为急性观察和慢性观察。海马神经细胞在 48 hr 内完成电生理实验的数据归为急性观察;在 48 hr 后,即在体外培养 3~5 d 进行电生理实验的数据归为慢性观察。为消除观察时间造成的差异,对照组和 LPS 组的神经细胞的实验在同一时段轮流交叉地安排。

2.3 试剂与仪器

实验用的膜片钳放大器是 EPC-9(HEKA, Lambrecht, 德国), HEKA8.53(HEKA Electronics, 德国)程序通过 AD/DA 转换板支持 EPC-9 放大器进行刺激发放和信号采集。电极拉制仪是 P-97Flaming/Brown micropipette puller (Sutter Instrument Company),微电极(World Precision Instruments, 美国)由拉制仪拉制并抛光。脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)购自 Sigma 公司,生理盐水购自北京双鹤药业有限公司。胎牛血清购自美国 HyClone 公司。DMEM (高糖)及胰蛋白酶, NeurobasalTM- A Medium 和 B-27 supplement 购自美国 Gibco 公司。

2.4 抑郁鼠行为测试

2.4.1 糖精水偏爱观察 在测试前一天对大鼠进行 24 hr 的饮水剥夺,测试当天将大鼠暴露于两个瓶子下:一个装 0.5%糖精水,一个装饮用水,进行 1 hr 的糖精水消耗量的测试。观察在此期间大鼠对饮用水和糖精水的消耗量,并计算糖精水占总液体的百分比,作为大鼠糖精水偏爱百分比。这是国际上测量动物抑郁的核心症状,快感缺乏的重要指标(Frenois et al., 2007; Wang et al., 2011)。

2.4.2 旷场行为观察 旷场(open-field)实验箱是一直径 1.8 cm, 高 50 cm 的圆形铁皮桶, 四周及桶底涂以黑漆。大鼠在旷场内的运动轨迹由摄像机记录。每只大鼠测试 5 min。观察指标主要包括水平活动和直立行为。水平活动以测试期间大鼠在旷场中的水平活动距离为计算指标(cm)。直立行为采用直接观察记录整个过程的发生次数的方法。这些是测量动物抑郁情绪反应的经典指标(Frenois et al., 2007; Wang et al., 2011)。

2.5 海马细胞培养

实验鼠分离出海马组织, 剪碎, 用 0.25%胰蛋白酶于 37 °C 消化 20 min。细胞经洗涤后在 DMEM 培养液(含 10%胎牛血清)中计数。将细胞悬液(1×10^5 个细胞/mL)加入预先用多聚赖氨酸包被的 35 mm 培养皿中, 于 37 °C, 5% CO₂ 培养箱中培养。5hr 后换成 Neurobasal™- A Medium、B-27 supplement 培养液, 进行电生理实验(Brewer, 1997)。

2.6 全细胞膜片钳记录和数据处理

电极外液为 (mM): NaCl 140, Hepes 10, Glucose 10, KCl 5, MgCl₂ 2, CaCl₂ 2, 用 NaOH 调 pH 值为 7.2 ~ 7.4。电极内液为 (mM): KCl 140, Hepes 10, MgCl₂ 2, CaCl₂ 2, Na₂ATP 2, EGTA 1, 用 KOH 调 pH 值为 7.2 ~ 7.4。电极电阻应为 3 mΩ~ 8 mΩ。所有的实验均在室温下进行(22~ 25 °C)。采用电压钳技术, 膜电压被钳制在 -110 mV, 先持续 100 ms 超极化刺激, 然后以电压 20 mV 的变化幅度, 给予从 -90 mV 到 +70 mV 的去极化刺激, 每一电压条件下测定时间为 150 ms。使用 HEKA Pulse 8.53 和 Oringin 7.0 软件分析数据。电流密度(pA / pF)与测试电位(mV)作图, 反映膜去极化程度对通道活性的影响(其中, PA 为膜离子通道电流幅值, PF 为细胞膜电容)。依据 LPS 对钾电流幅值和曲线形状的影响, 确定 LPS 对钾离子通道作用的电压依赖性的影响。每一步测试电压下的电流幅值(I)都用公式 $G=I/(V-E_k)$ 转化为电导(G)。I 为测量不同膜电压下全细胞的电流幅值(取 0% ~ 100%范围内电流的平均值); G 为各膜电位下测定的电导值; V 为各膜电位; E_k 为通道的翻转电位(本实验中细胞的 E_k 值为 -85 mV)。激活曲线电压门控型离子通道的功能特点反映通道开启的速度及难易程度。该激活曲线按照 Boltzmann 公式进行拟合: $G/G_{max}=1/\{1+\exp[-(V-V_{1/2})/K]\}$ 。其中, G 为各膜电位下测定的电导值; G_{max} 为最大电导值; V 为各膜电位; V_{1/2} 值为达到最大激活值一半时的膜电位(是曲线

变化最敏感的位点); K 为激活曲线斜率(反映激活速度的快慢, K 值越大, 激活速度越慢)。通过激活曲线的这些动力学参数(如 V_{1/2} 值和 K 值)的变化来判断 LPS 免疫激活是否改变海马神经细胞钾离子通道本身的动力学特性。

2.7 数据统计

实验数据以平均数±标准误(Mean ± SEM)表示。行为数据采用 Two-way ANOVA 重复方差分析, 电生理数据采用 One-way ANOVA 分析。各组之间的差异以 Post Hoc Scheffe 进行事后检验, 取概率值 $p < 0.05$ 为具有统计学显著意义。

3 结果

3.1 LPS 免疫激活对大鼠抑郁样行为的影响

3.1.1 糖精水偏爱测试 以 LPS 处理为组间变量, 时间为组内变量的 2×2 重复方差分析显示, LPS 药物主效应显著: $F(1, 18)=26.82, p < 0.01$; 时间主效应显著: $F(1, 18)=11.76, p < 0.01$; 药物 × 时间交互效应显著: $F(1, 18)=10.35, p < 0.01$ 。Post Hoc 检验表明, 大鼠的糖精水偏爱分在 LPS 注射 2 hr 后组间差异显著($p < 0.01$)。

如图 1A 所示, 注射 LPS 和生理盐水 2 hr 后, 对照组大鼠对糖精水偏爱的百分数为 80.3 ± 5.2 ; LPS 组大鼠对糖精水偏爱百分数为 31.7 ± 5.4 。LPS 2 hr 组大鼠对糖精水偏爱百分数显著低于对照组。注射 LPS 和生理盐水 24 hr 后, LPS 24 hr 组虽比对照组大鼠糖精水偏爱分数低, 但没有显著差异(见图 1B)。说明 LPS 24 hr 后糖精水偏爱逐渐恢复到正常水平。

3.1.2 旷场行为测试 关于水平活动, 方差分析显示, LPS 药物和时间因素都存在显著主效应: $F(1, 18)=39.93, p < 0.01$; $F(1, 18)=18.80, p < 0.01$ 。药物 × 时间的交互效应也显著 $F(1, 18)=11.94, p < 0.01$ 。关于直立行为, LPS 药物和时间因素也存在显著主效应: $F(1, 18)=18.49, p < 0.01$; $F(1, 18)=6.31, p < 0.05$ 。药物 × 时间的交互效应不显著。Post Hoc 检验表明在 LPS 注射 2 hr 后大鼠的水平活动和直立行为与对照组比差异显著($p < 0.01$)。

如图 2A 所示, 注射 LPS 和生理盐水 2 hr 后, 对照组大鼠水平活动为 4294.5 ± 267.7 cm; LPS 2 hr 组大鼠水平活动为 1334.9 ± 323.2 cm。LPS 2 hr 组大鼠水平活动显著低于对照组。但 LPS 24 hr 组与对照组大鼠水平活动没有显著差异(图 2B), 说明 LPS 24 hr 后水平活动逐渐恢复到正常水平。直立

行为见图 2C 和图 2D, LPS 2 hr 组大鼠直立行为(1.8 ± 0.6 次)显著低于对照组(10.9 ± 1.4 次)。LPS 24 hr

组与对照组大鼠直立行为没有显著差异, 说明 LPS 24 hr 直立行为逐渐恢复到正常水平。

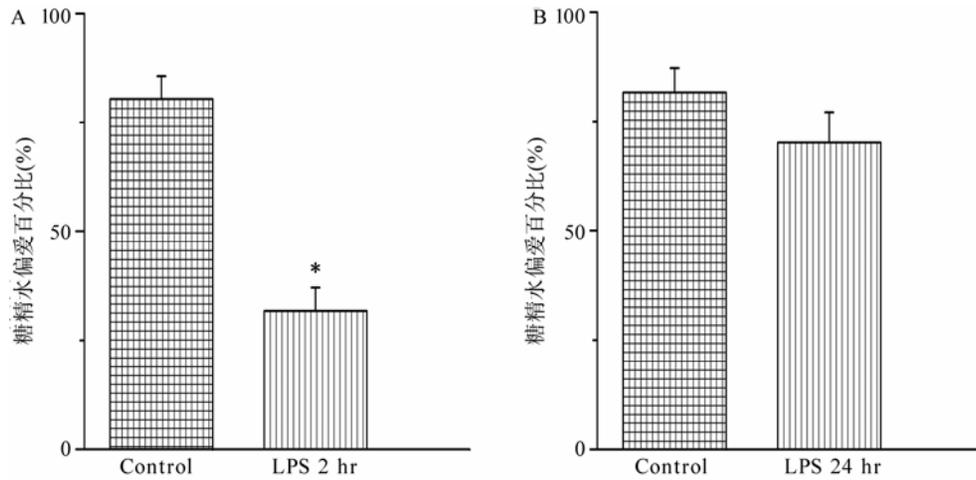


图 1 一次 LPS 注射后大鼠对糖精水偏爱的百分比

A)一次注射后 2 hr, 对照组和 LPS 组糖精水偏爱百分比; B)一次注射后 24 hr, 对照组和 LPS 组糖精水偏爱百分比。* 表示与对照组比较 $p < 0.01$ 。

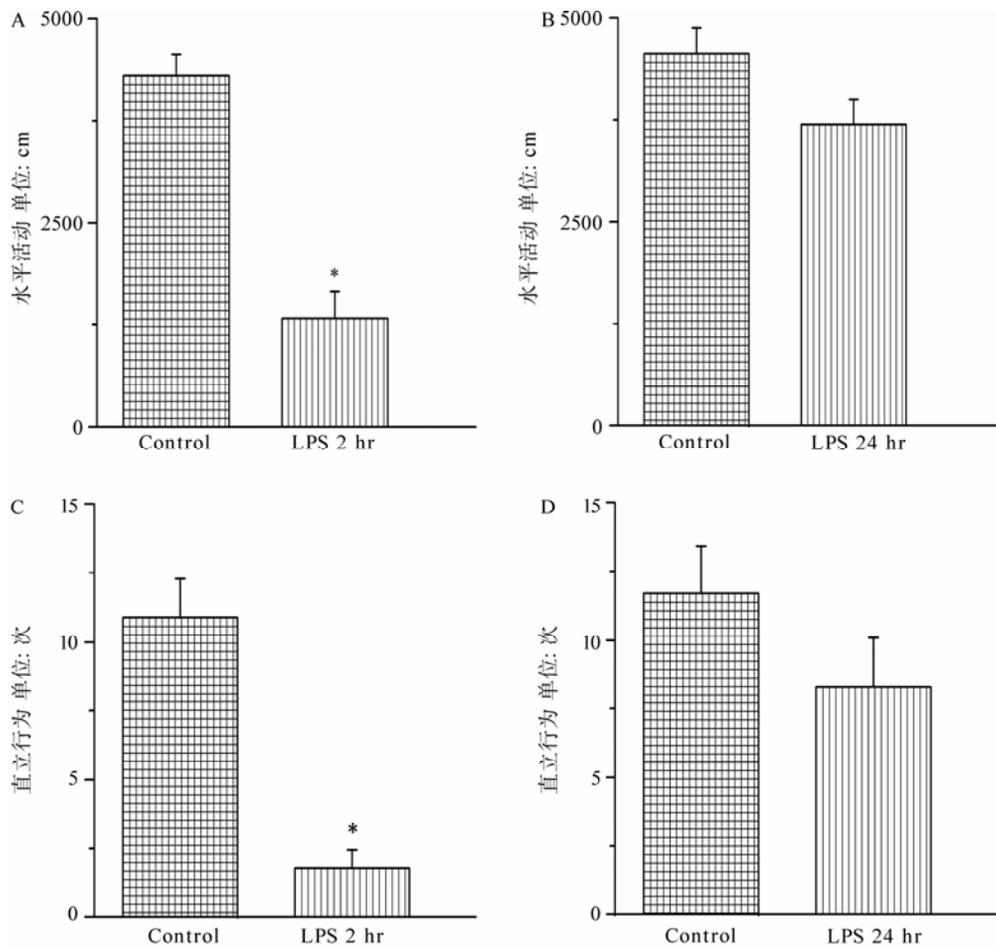


图 2 一次 LPS 注射后大鼠旷场行为

A)一次注射后 2 hr, 对照组和 LPS 组水平活动距离; B)一次注射后 24 hr, 对照组和 LPS 组水平活动距离; C)一次注射后 2 hr, 对照组和 LPS 组的直立行为次数; D)一次注射后 24 hr, 对照组和 LPS 组的直立行为次数。* 表示与对照组比较 $p < 0.01$ 。

3.2 LPS 免疫激活后海马神经细胞钾离子电流的变化

3.2.1 急性培养后观察 采用电压钳方式来测定海马神经细胞的钾离子通道电流: 钳制电压为 -110 mV, 步阶电压为 20 mV, 给予从 -90 mV 到 $+70$ mV 的去极化刺激。图 3 是 LPS 免疫激活后, 急性观察组的海马神经细胞电压依赖性钾离子通道电流幅值和密度的比较。图 3A, 3B 和 3C 分别为不同组别在不同电压处, 钾离子通道电流幅值。在最高电压 $+70$ mV 下, 钾离子通道电流所对应的幅值如下: 对照组为 1753 pA, LPS 注射后 2 hr 组为 3303 pA, LPS 注射后 24 hr 组为 1742 pA。图 3D 显示, 与对

照组比较, LPS 注射后 2 hr, 其电流密度显著升高 ($p < 0.05$, $p < 0.01$); 但 LPS 注射后 24 hr, 其电流密度没有显著性变化。

3.2.2 慢性培养后观察 图 4 是 LPS 免疫激活 2 hr 后, 海马神经细胞在体外慢性培养 48 hr 后电压依赖性钾离子通道电流幅值和密度的比较。 $+70$ mV 电压处, 钾离子通道电流幅值表明, 对照组为 1730 pA (图 4A), LPS 2 hr 后为 1760 pA (图 4B)。两组无显著性差异。其电流密度 LPS 组与对照组比较, 也没有显著性差异 (图 4C)。结果表明, LPS 免疫刺激大鼠后 2 hr 的海马神经细胞在体外培养 $3 \sim 5$ d, 其功能状态恢复。

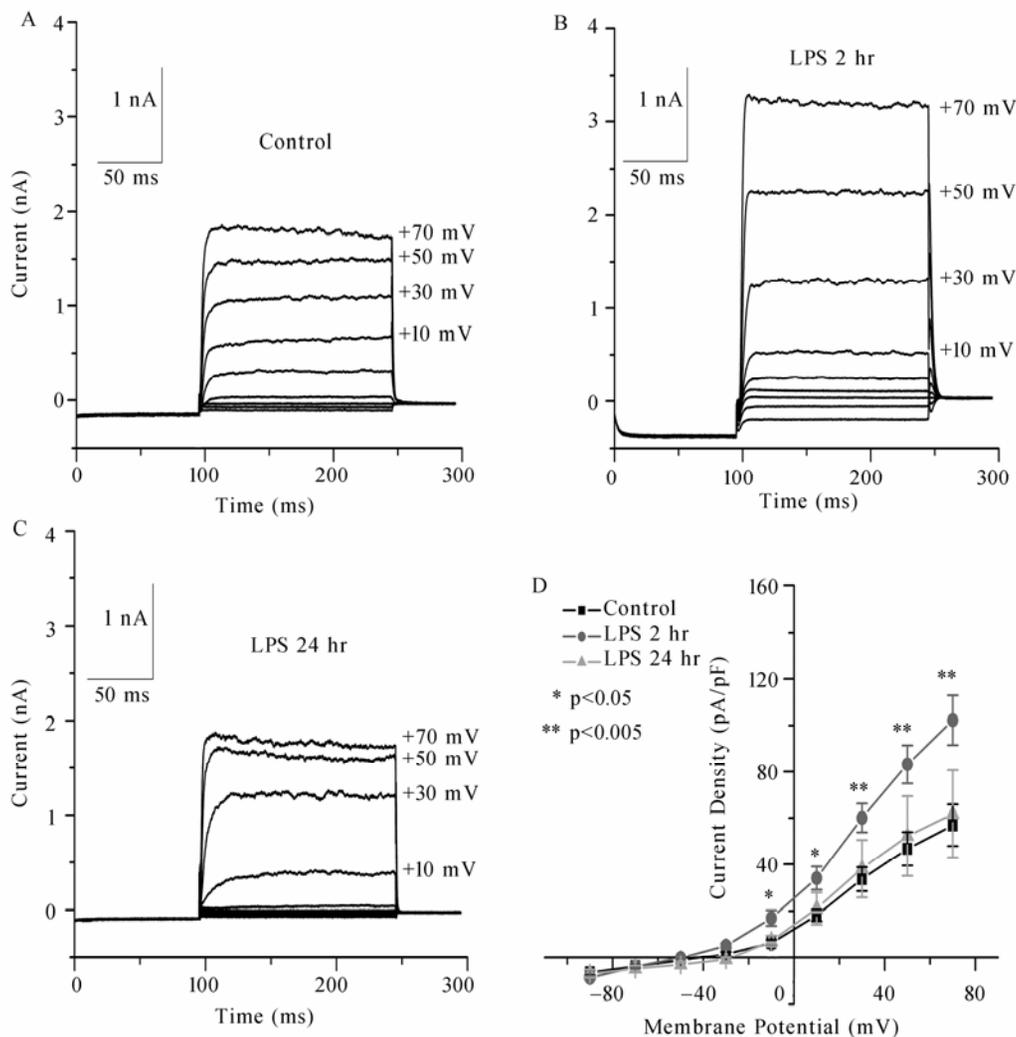


图 3 急性观察的海马神经细胞钾电流的比较

图 A - C, 海马神经细胞电压依赖性钾通道电流幅值。A) 对照组外向钾电流幅值; B) LPS 组(LPS 2 hr)外向钾电流幅值; C) LPS 组(LPS 24 hr)外向钾电流幅值; D) 对照组和 LPS 组的钾电流密度曲线图(横坐标为膜电压; 纵坐标为钾离子通道电流密度)。图中每一点表示来自 $11 \sim 15$ 个细胞的平均值。与对照组比较, * 表示 $p < 0.05$; ** 表示 $p < 0.01$ 。

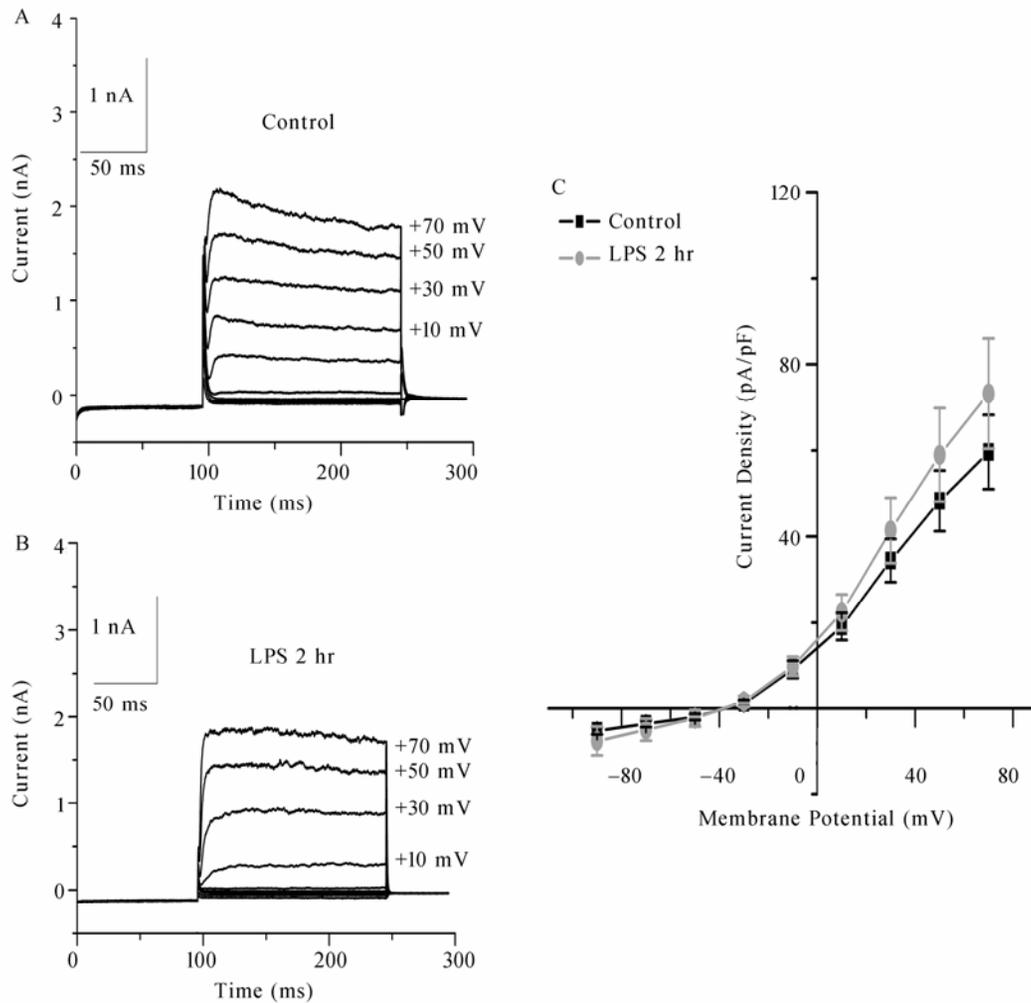


图 4 体外慢性培养的海马神经细胞钾电流的比较

图 A-B, 海马神经细胞体外慢性培养后电压依赖性钾通道电流幅值。A) 对照组的外向钾电流; B) LPS 组(LPS 2 hr)的外向钾离子电流; C) 对照组和 LPS 组的钾电流密度曲线图(横坐标为膜电压; 纵坐标为钾离子通道电流密度)。图中每一点表示来自 13 个细胞的平均值。

3.3 LPS 免疫激活后海马神经细胞钾电流激活特性

3.3.1 急性培养后观察 LPS 免疫激活后海马神经细胞钾电流激活特性的急性观察值见图 5。图 5A 为对照组和 LPS 组的钾离子通道的激活曲线。图 5B, 对照组的 $V_{1/2}$ 值为 6.6 ± 5.4 mV; LPS 2 hr 组的 $V_{1/2}$ 值为 13.9 ± 3.8 mV; LPS 24 hr 组的 $V_{1/2}$ 值为 6.2 ± 4.1 mV。图 5C, 对照组的 K 值为 28.0 ± 3.1 ; LPS 2 hr 组的 K 值为 24.0 ± 2.2 ; LPS 24 hr 组的 K 值为 31.2 ± 4.4 。结果显示, 虽然 LPS 2 hr 组的 $V_{1/2}$ 值比对照组高, 但是不论是 LPS 2 hr 组还是 LPS 24 hr 组与对照组比都没有显著性统计学差异。这表明, 对照组和 LPS 组的海马神经细胞的动力学参数没有显著性差异, 也即 LPS 没有明显改变海马神经

胞钾离子通道本身的动力学特性。

3.3.2 慢性培养后观察 图 6 为 LPS 注射后 2 hr, 体外慢性培养观察组的海马神经细胞电压依赖性钾离子通道激活特性的比较。图 6A 为对照组和 LPS 组的钾离子通道的激活曲线。图 6B 显示对照组的 $V_{1/2}$ 值为 14.7 ± 3.9 mV; LPS 组的 $V_{1/2}$ 值为 19.4 ± 3.1 mV。图 6C 显示对照组的 K 值为: 21.9 ± 1.6 ; LPS 组的 K 值为 20.4 ± 1.4 。结果表明, 对照组和 LPS 组动力学参数没有显著差异。

4 讨论

以往研究证明, 电压依赖性延迟整流钾离子通道 K_v7 (KCNQ 基因编码)在神经系统中起主要的作用, 并与控制神经细胞的兴奋性和焦虑有关。该家

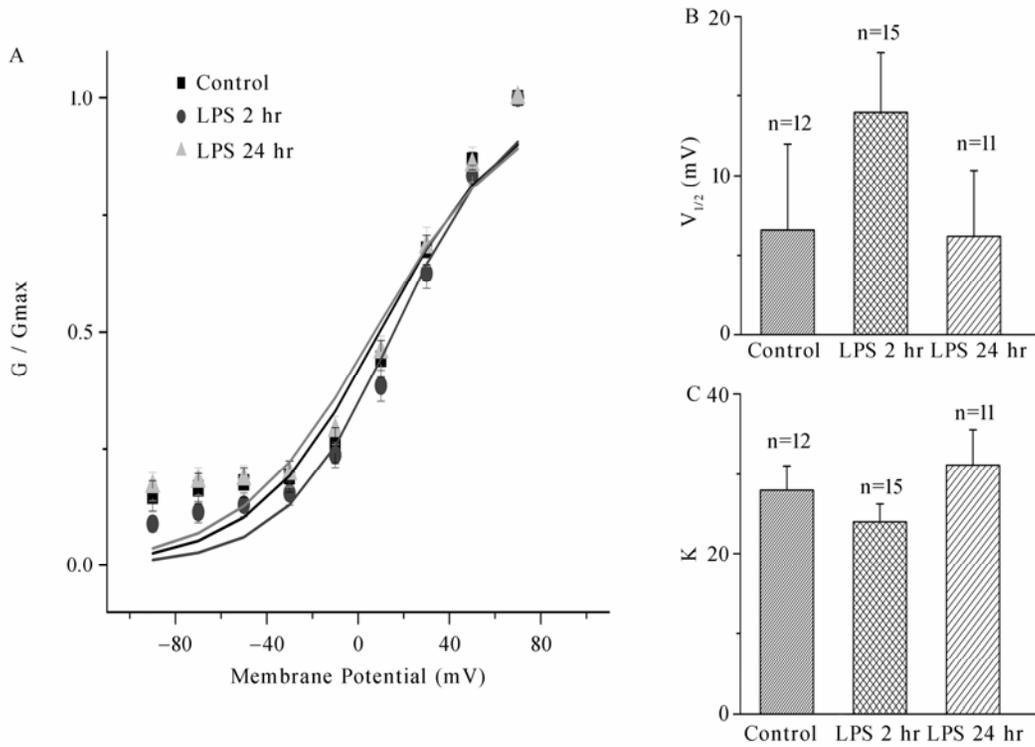


图 5 急性观察的海马神经细胞钾通道的激活特征

A)对照组和 LPS 组的钾离子通道的激活曲线(横轴为膜电压, 纵轴为全细胞钾离子通道电导); B)对照组和 LPS 组的 $V_{1/2}$ 值; C)对照组和 LPS 组的 K 值。LPS 组的 $V_{1/2}$ 值和 K 值分别与对照组的 $V_{1/2}$ 值和 K 值比较, 无统计学差异。图中每一点表示来自 11 ~ 15 个细胞的平均值。

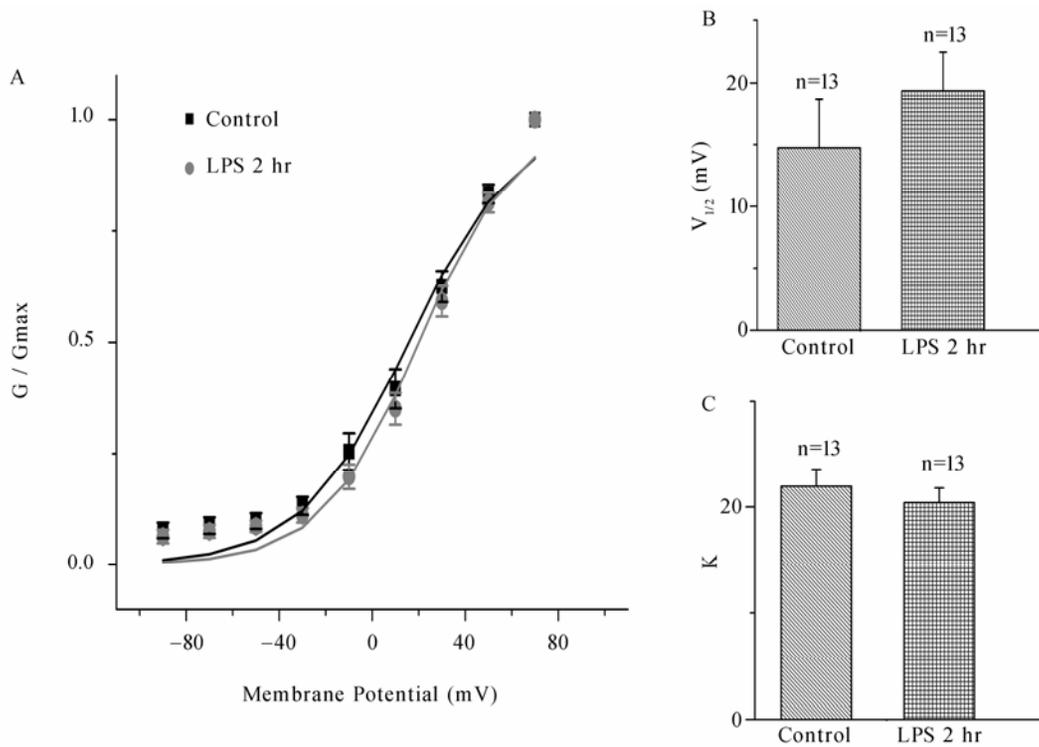


图 6 体外慢性培养的海马神经细胞钾通道的激活特征

A)对照组和 LPS 组的钾离子通道的激活曲线(横轴为膜电压, 纵轴为全细胞钾离子通道电导); B)对照组和 LPS 组的 $V_{1/2}$ 值; C)对照组和 LPS 组的 K 值。LPS 组的 $V_{1/2}$ 值和 K 值分别与对照组的 $V_{1/2}$ 值和 K 值比较, 无统计学差异。图中每一点表示来自 13 个细胞的平均值。

族包含五种通道亚型(Kv7.1 ~ Kv7.5), 其中四种(Kv7.2 ~ Kv7.5)在神经系统有表达(Hansen et al., 2008)。TREK-1 (TWIK-related K⁺ channel-1)钾离子通道参与调节神经细胞的兴奋性, 对抑郁症患者的认知起调节作用。较之对照组的小鼠, 钾离子通道 TREK-1 敲除的小鼠显示出抗抑郁的效应(Heurteaux et al., 2006)。

本研究发现在大鼠在一次 LPS 注射 2 hr 后, 急性观察组的海马神经细胞的钾离子通道与对照组比较, 其电流密度显著升高, 但是 LPS 注射后 24 hr, LPS 组的钾离子通道与对照组比较, 其电流没有显著性变化。说明 LPS 诱导的免疫激活在短时程内对海马神经细胞电压依赖钾电流有上调的作用, 但是这种影响缺乏长时程效应。该结果与行为学的观察是一致和平行的, 即一次 LPS 注射后 2 hr 产生抑郁样行为, LPS 注射后 24 hr 抑郁样行为基本消失。这表明抑郁样行为可能与海马神经细胞的钾离子通道的功能有关。即 LPS 诱导的抑郁样行为, 可能与海马神经细胞电压依赖钾电流上调有关; 而 LPS 诱导的抑郁样行为的恢复可能与海马神经细胞电压依赖钾电流的正常恢复有关。这一发现与钾离子通道阻断剂(Kaste et al., 2005)或钾离子通道敲除(Heurteaux et al., 2006)具有抗抑郁作用的报道是一致的。

本研究从钾离子通道特性的变化首次证明, LPS 造成的海马神经细胞本身的损伤不是永久性的, 是可以恢复的。研究发现 LPS 注射后 2 hr 的海马神经细胞, 在体外培养 48 hr 内, 其钾离子通道的电流密度与对照组比有显著性的上调; 但在体外培养 48 hr 后, 其钾离子通道的电流密度与对照组比较已没有显著性变化。这说明, 一次性 LPS 诱导的免疫激活对海马神经细胞本身的影响不是永久性的, 在体外培养 48 hr 后是可以恢复的。而在体内, LPS 注射后 24 hr 其海马神经细胞的钾离子通道的电流密度与对照组比已没有显著性变化, 说明体内环境更利于海马神经细胞对免疫刺激的恢复。这一现象与本研究中海马神经细胞钾离子通道的激活特性的观察是一致的。观察发现, LPS 组与对照组相比, 不论在体外急性实验中, 还是在体外慢性培养实验中, 海马神经细胞钾离子通道的激活特性没有显著变化。这意味着行为及海马神经细胞钾离子通道的电流密度的可恢复性, 可能与海马神经细胞自身的动力学特性没有被外周 LPS 免疫激活根本改变有关。

5 结论

LPS 免疫激活能诱导动物抑郁样行为, 并造成海马神经细胞电压依赖钾电流上调。但一次 LPS 诱导的抑郁样行为及海马神经细胞电压依赖钾电流变化仅有短时程效应。这可能与一次 LPS 免疫并没有根本改变海马神经细胞自身的动力学特性有关。该工作是从钾离子通道的变化探讨免疫炎性激活导致抑郁行为的分子机理研究的国内外首次报道, 钾离子通道的确切作用还有待进一步论证。

参 考 文 献

- Belmaker, R. H., & Agam, G. (2008). Mechanisms of disease: Major depressive disorder. *The New England Journal of Medicine*, 358, 55-68.
- Berton, O., & Nestler, E. J. (2006). New approaches to antidepressant drug discovery: Beyond monoamines. *Nature Reviews Neuroscience*, 7, 137-151.
- Bostwick, J. M., & Pankratz, V. S. (2000). Affective disorders and suicide risk: A reexamination. *American Journal of Psychiatry*, 157, 1925-1932.
- Brewer, G. J. (1997). Isolation and culture of adult rat hippocampal neurons. *Journal of Neuroscience Methods*, 71, 143-155.
- Cuijpers, P., & Smit, F. (2002). Excess mortality in depression: A meta-analysis of community studies. *Journal of Affective Disorders*, 72, 227-236.
- Dantzer, R., O'Connor, J. C., Freund, G. G., Johnson, R. W., & Kelley, K. W. (2008). From inflammation to sickness and depression: When the immune system subjugates the brain. *Nature Reviews Neuroscience*, 9, 46-56.
- De La Garza, R. (2005). Endotoxin- or pro-inflammatory cytokine-induced sickness behavior as an animal model of depression: Focus on anhedonia. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29, 761-770.
- Elhwuegi, A. S. (2004). Central monoamines and their role in major depression. *Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 28, 435-451.
- Franklin, A. E., Engeland, C. G., Kavaliers, M., & Ossenkopp, K. P. (2003). Lipopolysaccharide-induced hypoactivity and behavioral tolerance development are modulated by the light-dark cycle in male and female rats. *Psychopharmacology*, 170, 399-408.
- Frenois, F., Moreau, M., O'Connor, J., Lawson, M., Micon, C., Lestage, J., et al. (2007). Lipopolysaccharide induces delayed FosB/DeltaFosB immunostaining within the mouse extended amygdala, hippocampus and hypothalamus, that parallel the expression of depressive-like behavior. *Psychoneuroendocrinology*, 32, 516-531.
- Hansen, H. H., Waroux, O., Seutin, V., Jentsch, T. J., Aznar, S., & Mikkelsen, J. D. (2008). Kv7 channels: Interaction with dopaminergic and serotonergic neurotransmission in the CNS. *Journal of Physiology*, 586, 1823-1832.
- Hensler, J. G. (2003). Regulation of 5-HT1A receptor function in brain following agonist or antidepressant administration. *Life Sciences*, 72, 1665-1682.
- Heurteaux, C., Lucas, G., Guy, N., El Yacoubi, M., Thümmel, S., Peng, X. D., et al. (2006). Deletion of the background

- potassium channel TREK-1 results in a depression-resistant phenotype. *Nature Neuroscience*, 9, 1134–1141.
- Hille, B. (2001). *Ionic channels of excitable membranes* (3rd ed.). Sunderland, MA: Sinauer.
- Kaster, M. P., Ferreira, P. K., Santos, A. R. S., & Rodrigues, A. L. S. (2005). Effects of potassium channel inhibitors in the forced swimming test: Possible involvement of L-arginine-nitric oxide-soluble guanylate cyclase pathway. *Behavioural Brain Research*, 165, 204–209.
- Kessler, R. C., Berglund, P., Demler, O., Jin, R., Koretz, D., Merikangas, K. R., et al. (2003). The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). *The Journal of the American Medical Association*, 289, 3095–3105.
- Kuang, X. Y., Lin, W. J., Wang, D. L., Qi, X. L., Pan Y. Q., Sun H., et al. (2011). The effect of cholecystokinin octapeptide on lipopolysaccharide-induced sickness behavior and peripheral cytokine secretion. *Acta Psychologica Sinica*, 43(3), 283–293.
- [邝雪莹, 林文娟, 王东林, 亓晓丽, 潘玉芹, 孙茜, 等. (2011). 胆囊收缩素对脂多糖诱发的病态行为及外周细胞因子的影响. *心理学报*, 43(3), 283–293].
- Lucassen, P. J., Müller, M. B., Holsboer, F., Bauer, J., Holtrop, A., Wouda, J., et al. (2001). Hippocampal apoptosis in major depression is a minor event and absent from subarease at risk for glucocorticoid overexposure. *American Journal of Pathology*, 158, 453–468.
- McLanghlin, B. A., Pal, S., Tran, M. P., Parsons, A. A., Barone, F. C., Erhardt, J. A., et al. (2001). P38 activation is required upstream of potassium current enhancement and caspase cleavage in thiol oxidant-induced neuronal apoptosis. *Journal of Neuroscience*, 21, 3303–3311.
- Pan, Y. Q., & Lin, W. J. (2006). Hippocampal serotonergic neurotransmission and depression. *Chinese Journal of Behavioral Medical Science*, 15, 379–380.
- [潘玉芹, 林文娟. (2006). 海马 5-羟色胺系统与抑郁症. *中国行为医学科学*, 15, 379–380]
- Pan, Y. Q., Wang, D. L., & Lin, W. J. (2007). Animal research on immunity activation-induced depressive-like behavior: Doses and time effects. *Acta Psychologica Sinica*, 39, 1041–1047.
- [潘玉芹, 王东林, 林文娟. (2007). 脂多糖免疫激活导致抑郁性行为的动物研究: 剂量和时程效应. *心理学报*, 39, 1041–1047.]
- Spijker, J., de Graaf, R., Bijl, R. V., Beekman, A. T. F., Ormel, J., & Nolen, W. A. (2004). Functional disability and depression in the general population. Results from the Netherlands Mental Health Survey and Incidence Study (NEMESIS). *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 110, 208–214.
- Wang, D. L., Lin, W. J., Pan, Y. Q., Kuang, X. Y., Qi, X. L., & Sun, H. (2011). Chronic blockade of glucocorticoid receptors by RU486 enhances lipopolysaccharide-induced depressive-like behaviour and cytokine production in rats. *Brain, Behavior, and Immunity*, 25, 706–714.
- Yu, S. P., Yeh, C. H., Sensi, S. L., Gwag, B. J., Canzoniero, L. M., Farhangrazi, Z. S., et al. (1997). Mediation of neuronal apoptosis by enhancement of outward potassium current. *Science*, 278, 114–117.

Upregulation of K⁺ Current in Hippocampal Neurons from Rat with Depressive-Like Behavior Induced by Lipopolysaccharide

CHI Shao-Peng^{1,2,3}; QI Zhi⁴; JI Guang-Ju³; KUANG Xue-Ying¹; LIN Wen-Juan¹

(¹Key Laboratory of Mental Health, Institute of Psychology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

(²Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

(³National Laboratory of Biomacromolecules, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

(⁴Department of Physiology, Medical College of Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract

Lipopolysaccharide (LPS)-induced immunity activation can result in evident depressive-like behavior, such as anhedonia and reduced locomotion. Earlier studies have shown that K⁺ channels, such as Kv7 and TREK-1, are involved in the development of depressive-like behavior in animal models. In the present study, we show that LPS (200 μg/kg) could induce significant short-term depressive-like behavior in rat. In order to get insight into the underlying molecular mechanism, we investigated the potential involvement of rat hippocampal neuron voltage-dependent K⁺ channels in the depressive-like behaviors induced by LPS. Methods: Twenty rats were randomly divided into LPS and control groups, each with ten rats. The rats in the LPS group were injected with LPS (200 μg/kg), while saline was injected in the rats of the control group. The saccharin preference test and open field test were carried out 2 hours and 24 hours after injection of LPS to assess short-term or long-term

effects on animal behavior, respectively. Next, 12 rats were randomly divided into LPS 2 hr, LPS 24 hr and control groups, each with four rats for assessing the effect of LPS on K⁺ channel currents of hippocampal neurons by using whole-cell patch-clamp configuration. Results: The data showed that LPS induced depressive-like behavior in rat after 2 hours of single injection. However, this depressive-like behavior was recovered after 24 hours of single LPS injection. In agreement with these behavioral observations, voltage-dependent K⁺ current density was increased in neurons isolated from rat after 2 hours of single LPS injection, whereas no significant change was found after 24 hours injection. Conclusion: Our results demonstrate that LPS-induced immunity activation can result in evident short term depressive-like behavior in rats, which are coincident with LPS induced up-regulation of voltage-dependent K⁺ current in rat hippocampal neurons. This result suggests that voltage-dependent K⁺ current might contribute to the development of the depressive-like behavior induced by LPS.

Key words lipopolysaccharide; depressive-like behavior; hippocampal neuron; voltage-dependent potassium channel