

论著·基础研究

I 型促代谢性谷氨酸受体在小剂量氯胺酮保护抑郁大鼠电休克后学习记忆功能中的作用

刘大为¹, 任力², 闵苏²

1. 重庆医科大学附属永川医院麻醉科, 重庆 402160; 2. 重庆医科大学附属第一医院麻醉科, 重庆 400016

[摘要] **目的**·探讨 I 型促代谢性谷氨酸受体 (group I metabotropic glutamate receptor, I 型 mGluR) 调节谷氨酸 N-甲基-D-天冬氨酸受体 (N-methyl-D-aspartic acid receptor, NMDAR) 介导的突触可塑性在小剂量氯胺酮保护抑郁大鼠改良电休克 (modified electroconvulsive shock, MECS) 后空间学习记忆功能中的作用。**方法**·对 2~3 月龄 Sprague Dawley (SD) 大鼠, 应用慢性不可预见性应激建立抑郁模型。取 10 只健康大鼠作为对照组 (C 组), 另取 30 只抑郁大鼠随机分为 D 组、M 组、KM 组。C 组不予实验处理; D 组腹腔注射生理盐水后行伪 MECS 处理; M 组腹腔注射丙泊酚, KM 组腹腔注射丙泊酚复合小剂量氯胺酮 (10 mg/kg), 之后分别行 MECS 处理。应用糖水偏好实验评估抑郁状态; Morris 水迷宫检测空间学习记忆功能; Western blotting 检测海马组织细胞膜 NMDAR1、mGluR1、mGluR5 蛋白表达。另取 36 只抑郁大鼠随机分为 6 组: DE 组、m1E 组、m5E 组、DE' 组、m1E' 组、m5E' 组。DE 组、DE' 组脑片灌流单纯人工脑脊液; m1E 组、m1E' 组脑片灌流含有 mGluR1 阻断剂的人工脑脊液; m5E 组、m5E' 组脑片灌流含有 mGluR5 阻断剂的人工脑脊液。检测 DE 组、m1E 组、m5E 组长时程增强 (long-term potentiation, LTP) 以及 DE' 组、m1E' 组、m5E' 组 NMDAR 介导的场电位 (fEPSP_{NMDAR})。**结果**·实验处理后, 与 D 组比较, M 组和 KM 组糖水偏好百分比升高 ($P<0.05$), 逃避潜伏期 (escape latency, EL) 延长 ($P<0.05$), 目标象限空间探索时间 (space exploration time, SET) 缩短 ($P<0.05$); 与 M 组比较, KM 组 EL 缩短 ($P<0.05$), 目标象限 SET 延长 ($P<0.05$)。与 D 组比较, M 组和 KM 组 NMDAR1、mGluR1、mGluR5 蛋白表达降低 ($P<0.05$); 与 M 组比较, KM 组 NMDAR1、mGluR1、mGluR5 蛋白表达升高 ($P<0.05$)。与 DE 组比较, m1E 组和 m5E 组 LTP 降低 ($P<0.05$)。与 DE' 组比较, m1E' 组和 m5E' 组 fEPSP_{NMDAR} 降低 ($P<0.05$)。**结论**·小剂量氯胺酮可能通过上调抑郁大鼠 MECS 后海马组织细胞膜 NMDAR 和 I 型 mGluR 表达, 增强 NMDAR 激活状态同时上调 LTP, 减轻空间学习记忆功能损伤。**[关键词]** 氯胺酮; 电休克; 学习记忆功能; I 型促代谢性谷氨酸受体; 突触可塑性; 大鼠
[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2019.11.006 **[中图分类号]** R749.054 **[文献标志码]** A

Role of group I mGluR in low dose ketamine protecting learning and memory function after electroconvulsive shock in depression rats

LIU Da-wei¹, REN Li², MIN Su²

1. Department of Anesthesiology, Yongchuan Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 402160, China; 2. Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

[Abstract] **Objective**·To investigate the role of group I metabotropic glutamate receptor (mGluR) in the regulation of N-methyl-D-aspartic acid receptor (NMDAR)-mediated synaptic plasticity in low dose ketamine protecting learning and memory function after modified electroconvulsive shock (MECS). **Methods**·The 2-3-month-old Sprague Dawley (SD) rats were used to establish depression models with chronic unpredictable mild stress. Ten healthy rats were used as the control group (group C), and another 30 depressed rats were randomly divided into group D, group M, and group KM. Group C was not treated, group D was treated with pseudo-MECS after intraperitoneal injection of normal saline, group M was given intraperitoneal injection of propofol, and group KM was given intraperitoneal injection of propofol combined with low-dose ketamine (10 mg/kg). Both group M and group KM underwent MECS. The sucrose preference test was used to evaluate the depression status. The Morris water maze was used to detect the spatial learning and memory function. The expression of NMDAR1, mGluR1 and mGluR5 proteins in the hippocampus was detected by Western blotting. Another 36 depressed rats were randomly divided into 6 groups: group DE, group m1E, group m5E, group DE', group m1E', and group m5E'. Group DE and group DE' were perfused with artificial cerebrospinal fluid alone. Group m1E and group m1E' were perfused with artificial cerebrospinal fluid containing mGluR1 blocker. Group m5E and group m5E' were perfused with artificial cerebrospinal fluid containing mGluR5 blocker. Long-term potentiations (LTP) were detected in group DE, group m1E, and group m5E. NMDAR-mediated field potentials (fEPSP_{NMDAR}) were detected in group DE', group m1E', and group m5E'. **Results**·After treatment, the sucrose preference percentages of group M and group KM increased compared with group D ($P<0.05$), the escape latencies (EL) of group M and group KM were prolonged ($P<0.05$), and the space exploration times (SET) were shortened ($P<0.05$). Compared with group M, the EL of group KM was shortened ($P<0.05$), and the SET was prolonged ($P<0.05$). Compared with group D, the expression levels of NMDAR1, mGluR1 and mGluR5 in group M and group KM decreased ($P<0.05$). Compared with group M, the expression levels of NMDAR1, mGluR1 and mGluR5 in group KM increased ($P<0.05$). Compared with group DE, the LTP decreased in group m1E and group m5E ($P<0.05$). Compared with group DE', the fEPSP_{NMDAR} of group m1E' and group m5E' decreased ($P<0.05$). **Conclusion**·Ketamine up-regulates NMDAR1 and group I mGluR expression to enhance the activation of NMDAR in the hippocampus which may be responsible for the protective effects on spatial learning and memory function in depression rats undergoing MECS. **[Key words]** ketamine; electroconvulsive shock; learning and memory function; group I metabotropic glutamate receptor; synaptic plasticity; rat

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目 (81271501); 国家临床重点专科建设项目 [财社 (2011) 170 号]; 重庆市应用开发计划项目 (cstc2014yykfA110028); 重庆市医学重点学科建设项目 [渝卫科教 (2007) 2 号]; 重庆市基础与前沿研究计划 (cstc2016jcyjA0100); 重庆医科大学附属永川医院内科研课题 (YJJC201905) [National Natural Science Foundation of China, 81271501; National Clinical Key Specialist Construction Project, Caishe (2011) No. 170; Chongqing Application Development Plan Project, cstc2014yykfA110028; Chongqing Medical Key Discipline Construction Project, Yuwei Science Education (2007) No. 2; Chongqing Basic and Frontier Research Program, cstc2016jcyjA0100; In-house Scientific Research Project of the Yongchuan Hospital of Chongqing Medical University, YJJC201905].

[作者简介] 刘大为 (1988—), 男, 主治医师, 硕士生, 电子信箱: 136616171@qq.com.

[通信作者] 闵苏, 电子信箱: ms89011068@163.com.

抑郁症是以情绪低落为主要表现的情感障碍类疾病, 位居失能性疾病首位^[1-2]。改良电休克疗法(modified electroconvulsive therapy, MECT) 经历了 80 多年的临床验证, 目前认为是治疗抑郁症最为快速、有效的方法^[3]。MECT 在动物实验中也称为 MECS (modified electroconvulsive shock)。临床及基础研究^[4-5]均发现, 反复进行 MECT 或 MECS 可引起患者和动物空间学习记忆功能损伤。我们前期研究^[6]发现小剂量氯胺酮(大鼠, 10 mg/kg, 腹腔注射)可能通过升高 MECS 后 N-甲基-D-天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartic acid receptor, NMDAR)表达减轻 MECT 所导致的学习记忆功能损伤, 但其具体机制尚不清楚。NMDAR 介导的突触可塑性是学习记忆的重要机制。有研究显示, 突触后膜分布的 I 型促代谢性谷氨酸受体(group I metabotropic glutamate receptor, I 型 mGluR)与 NMDAR 介导的学习记忆功能密切相关^[7-8], 其在结构上通过支架蛋白 Homer-Shank-PSD95 与 NMDAR 紧密相连, 其在功能上可能通过 G 蛋白、蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)、Ca²⁺ 等一系列细胞内途径调节 NMDAR 功能^[9-10]。因此, 本研究拟明确小剂量氯胺酮是否可能通过调节海马组织细胞 NMDAR 与 I 型 mGluR 关系, 改变 NMDAR 介导的突触可塑性而影响学习记忆, 以期为临床应用小剂量氯胺酮保护抑郁患者 MECS 后学习记忆功能提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物选择及建模

重庆医科大学动物实验中心为本实验提供 2 ~ 3 月龄健康雄性 Sprague Dawley (SD) 大鼠, 体质量 180 ~ 250 g; 实验动物生产许可证号为 SCXK (渝) 2017-0001, 使用许可证号为 SYXK (渝) 2017-0023。采用慢性不可预见性应激(chronic unpredictable mild stress, CUMS)建立抑郁模型^[6, 11]。经过 CUMS 处理后, 通过行为学方法评估大鼠抑郁状态, 共获取成功建模大鼠 66 只。

1.2 动物实验分组及处理

1.2.1 行为学及分子生物学实验 获取 10 只健康雄性 SD 大鼠为对照组(C组); 另取建模成功的抑郁大鼠 30 只, 随机分为抑郁模型组(D组)、MECS 组(M组)、小剂量氯胺酮复合 MECS 组(KM 组)。C 组不予实验处理; D 组腹腔注射 8 mL/kg 生理盐水后行伪 MECS 处理(用乙醇擦拭大鼠双耳, 将 2 个电极夹置于大鼠双耳, 但不给予电刺激处理); M 组腹腔注射丙泊酚 80 mg/kg (批号 NG149, Astra Zeneca, 意大利)后行 MECS 处理(电极放置方法与伪 MECS 一致,

输出电量约 120 mC); KM 组腹腔注射丙泊酚复合小剂量氯胺酮 10 mg/kg (批号 1707033, 福建古田制药厂, 中国)后行 MECS 处理。实验处理每日 1 次, 连续 7 d^[6]。

1.2.2 电生理实验 选取 18 只抑郁大鼠, 随机分为 3 组 ($n=6$), 检测长时程增强(long-term potentiation, LTP), 分别为抑郁模型组(DE 组)、mGluR1 阻断剂灌注组(m1E 组)、mGluR5 阻断剂灌注组(m5E 组)。另选取 18 只抑郁大鼠随机分为 3 组 ($n=6$), 检测 NMDAR 介导的场电位(fEPSP_{NMDAR}), 分别为抑郁模型组(DE' 组)、mGluR1 阻断剂灌注组(m1E' 组)、mGluR5 阻断剂灌注组(m5E' 组)。

1.3 大鼠行为学检测

1.3.1 糖水偏好实验 建模及实验处理后, 各进行 1 次糖水偏好实验。禁饮禁食 23 h 后每笼放置 1 瓶无菌水和 1 瓶 1% 糖水, 自由饮水 30 min 后水瓶位置互换, 继续饮用 30 min。糖水偏好百分比(sucrose preference percentage, SPP)=[糖水饮用量/(糖水饮用量+无菌水饮用量)]×100%。

1.3.2 Morris 水迷宫实验 建模及实验处理后, 各进行 1 次 Morris 水迷宫实验。水箱分为 SE、SW、NW、NE 4 个象限。第 1 ~ 5 日进行逃避潜伏期(escape latency, EL)实验: 将 NE 象限设置为目标象限, 每只大鼠随机选定 1 个入水象限, 然后按照逆时针方向依次从各象限入水, 从入水开始计时, 到登上平台为止, 记录为 EL; 如果大鼠在 60 s 内没有登上目标象限的平台, 则通过引导的方法将大鼠引导至平台上, 记录当次 EL 为 60 s。第 6 日进行空间探索实验: 移除目标象限中的平台, 让大鼠从目标象限的对侧象限入水, 记录大鼠 60 s 时间内在目标象限的停留时间为空间探索时间(space exploration time, SET)^[12]。

1.4 Western blotting 检测海马 NMDAR1、mGluR1、mGluR5 蛋白

实验处理后提取大鼠海马组织, 按照膜蛋白提取试剂盒(批号 P0033, 碧云天生物技术研究, 中国)操作流程, 反复离心提取膜蛋白, 用 BCA 法检测蛋白浓度^[13]。每孔加样 30 μg 蛋白样品, 按照流程进行电泳、转膜、封闭。滴加小鼠抗 NMDAR1 抗体(批号 ab174309, Abcam, 英国)、小鼠抗 mGluR1 抗体(批号 SC-293437, Abcam, 英国)、小鼠抗 mGluR5 抗体(批号 ab76316, Abcam, 英国)及小鼠抗 GAPDH 抗体(批号 AF0006, 碧云天生物技术研究, 中国), 4 °C 过夜。冲洗后滴加辣根过氧化物酶标记的抗小鼠 IgG (1:1 000, A0216, 碧云天生物技术研究, 中国), ECL 显色。应用 Quantity

One 分析图像,以目的蛋白与 GAPDH 条带灰度值的比值作为目的蛋白相对表达水平。

1.5 电生理实验

DE 组与 DE' 组脑片灌流单纯人工脑脊液, m1E 组与 m1E' 组脑片灌流含有 mGluR1 阻断剂 YM298198 (批号 ab120015, Abcam 公司, 英国) 1 $\mu\text{mol/L}$ 的人工脑脊液^[14], m5E 组与 m5E' 组灌流含有 mGluR5 阻断剂 MTEP (批号 ab120035, Abcam 公司, 英国) 500 nmol/L 的人工脑脊液^[15]。DE 组、m1E 组、m5E 组检测 LTP, 刺激电极置于 CA3 区, 记录电极置于 CA1 区, 高频刺激 (high frequency stimulation, HFS) 100 Hz 诱导 LTP, 记录 HFS 30 min 后稳定的 fEPSP 相对于基础值的变化率为 LTP。DE' 组、m1E' 组、m5E' 组检测 fEPSP_{NMDAR}, 刺激电极放置在海马 CA3 区 Schaffer 侧支, 记录电极放置在 CA1 放射区, 采用低镁记录液 (Mg^{2+} 浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$) 联合 NBQX [α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异噁唑丙酸受体 (AMPA) 阻断剂, 5 $\mu\text{mol/L}$] 分离 fEPSP_{NMDAR}^[16]。

1.6 统计学分析

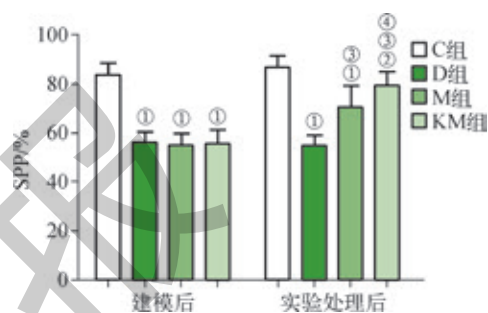
采用 SPSS 21.0 版软件进行统计分析。符合正态分布的定量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示。行为学数据采用重复测量方差分析进行比较, 蛋白浓度、LTP 测量值、fEPSP_{NMDAR} 斜率组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 行为学指标

2.1.1 糖水偏好实验 建模后各组大鼠 SPP 的差异有统计

学意义 ($F=80.33$, $P < 0.05$)。与 C 组相比, D 组、M 组、KM 组 SPP 降低 ($P < 0.05$); 而 D 组、M 组和 KM 组 3 组之间比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。实验处理后各组大鼠 SPP 差异有统计学意义 ($F=44.19$, $P < 0.05$); 与 C 组相比, D 组、M 组、KM 组大鼠 SPP 降低 ($P < 0.05$); 与 D 组相比, M 组、KM 组大鼠 SPP 升高 ($P < 0.05$); 与 M 组相比, KM 组大鼠 SPP 升高 ($P < 0.05$) (图 1)。

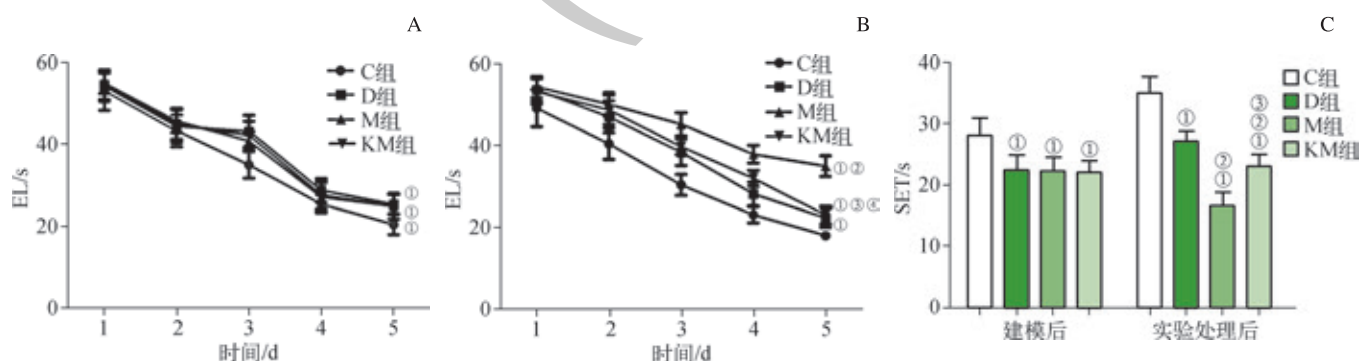


注: 建模后, ^① $P=0.000$, 与 C 组比较。实验处理后, ^① $P=0.000$, ^② $P=0.021$, 与 C 组比较; ^③ $P=0.000$, 与 D 组比较; ^④ $P=0.003$, 与 M 组比较

图 1 建模后及实验处理后各组大鼠 SPP

Fig 1 SPP of rats in each group after CUMS and experimental treatment

2.1.2 Morris 水迷宫实验 建模后各组大鼠 EL ($F=13.1$, $P < 0.05$)、SET ($F=13.26$, $P < 0.05$) 差异有统计学意义; 与 C 组相比, D 组、M 组、KM 组 EL 延长 ($P < 0.05$), SET 缩短 ($P < 0.05$), 而 D 组、M 组、KM 组之间 EL、SET 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。实验处理后各组大鼠 EL ($F=119.7$, $P < 0.05$) 及 SET ($F=110.11$, $P < 0.05$) 差异有统计学意义; 与 C 组相比, D 组、M 组和 KM 组 EL 延长 ($P < 0.05$), SET 缩短 ($P < 0.05$); 与 D 组相比, M 组、KM 组 EL 延长 ($P < 0.05$), SET 缩短 ($P < 0.05$); 与 M 组相比, KM 组 EL 缩短 ($P < 0.05$), SET 延长 ($P < 0.05$) (图 2)。



注: A. 建模后 EL (^① $P=0.000$, 与 C 组比较); B. 实验处理后 EL (^① $P=0.000$, 与 C 组比较; ^② $P=0.000$, ^③ $P=0.036$, 与 D 组比较; ^④ $P=0.000$, 与 M 组比较); C. 建模后及实验处理后 SET (建模后: ^① $P=0.000$, 与 C 组比较。实验处理后: ^① $P=0.000$, 与 C 组比较; ^② $P=0.000$, 与 D 组比较; ^③ $P=0.000$, 与 M 组比较)

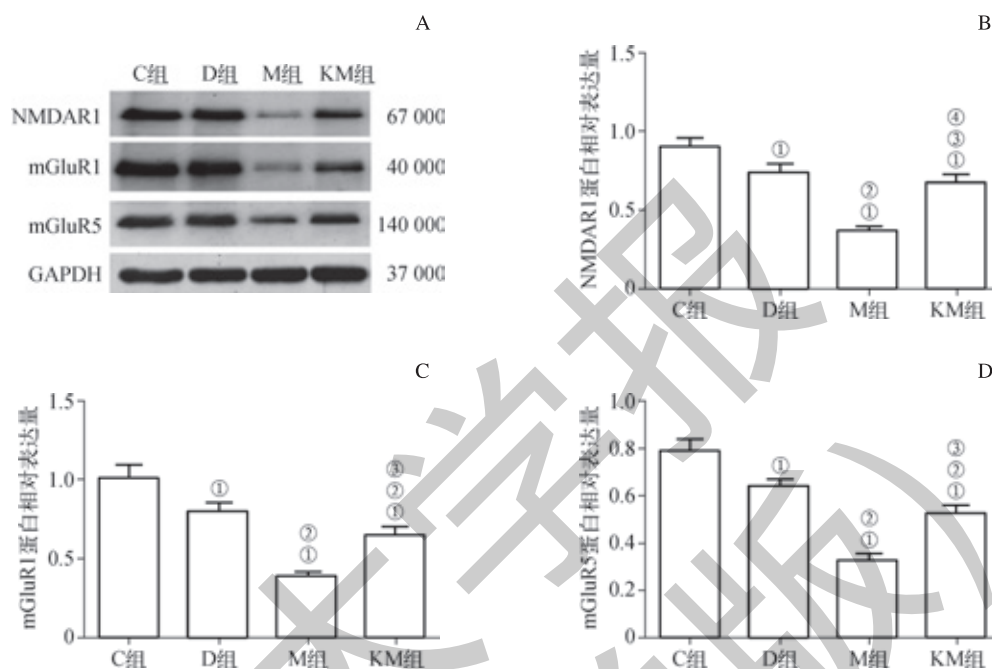
图 2 建模后及实验处理后各组大鼠 Morris 水迷宫实验

Fig 2 Morris water maze test in each group after CUMS and experimental treatment

2.2 海马 NMDAR1、mGluR1、mGluR5 蛋白表达水平

各组大鼠海马组织细胞膜 NMDAR1 ($F=136.15$, $P<0.05$)、mGluR1 ($F=107.25$, $P<0.05$)、mGluR5 ($F=177.93$, $P<0.05$) 蛋白表达水平差异有统计学意义。与 C 组比较, D 组、M 组和 KM 组 NMDAR1、mGluR1、

mGluR5 蛋白表达水平降低 ($P<0.05$); 与 D 组比较, M 组和 KM 组 NMDAR1、mGluR1、mGluR5 蛋白表达水平降低 ($P<0.05$); 与 M 组比较, KM 组 NMDAR1、mGluR1、mGluR5 蛋白表达水平明显升高 ($P<0.05$) (图 3)。



注: A. Western blotting 检测结果; B. NMDAR1 蛋白相对表达量的组间比较 (① $P=0.000$, 与 C 组比较; ② $P=0.000$, 与 D 组比较; ③ $P=0.026$, 与 D 组比较; ④ $P=0.000$, 与 M 组比较); C. mGluR1 蛋白相对表达量的组间比较 (① $P=0.000$, 与 C 组比较; ② $P=0.000$, 与 D 组比较; ③ $P=0.000$, 与 M 组比较); D. mGluR5 蛋白相对表达量的组间比较 (① $P=0.000$, 与 C 组比较; ② $P=0.000$, 与 D 组比较; ③ $P=0.000$, 与 M 组比较)

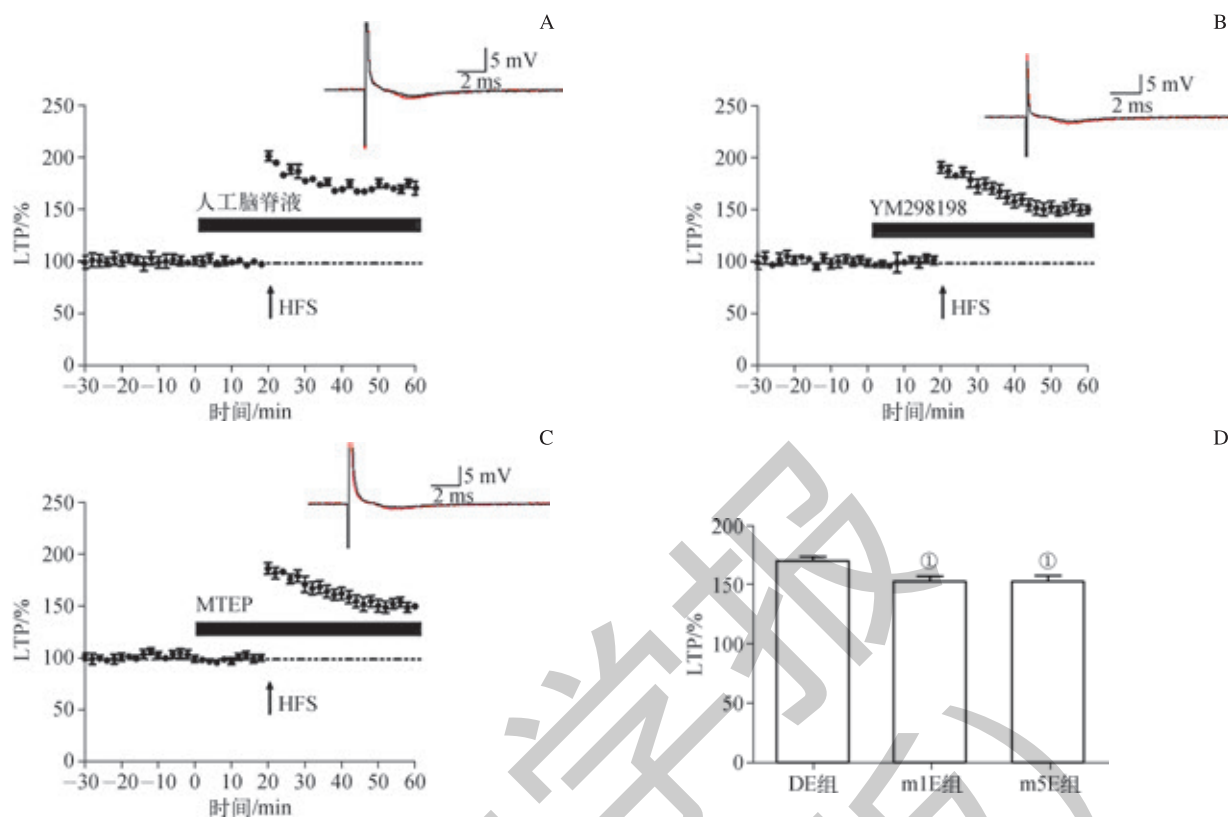
图 3 各组大鼠海马组织细胞膜 NMDAR1、mGluR1、mGluR5 蛋白相对表达量

Fig 3 Relative expression of NMDAR1, mGluR1 and mGluR5 proteins on the membrane in hippocampus of rats in each group

2.3 电生理实验结果

DE 组、m1E 组、m5E 组海马 SC-CA1 神经通路 HFS 诱导 LTP 差异有统计学意义 ($F=91.99$, $P<0.05$); 与 DE 组相比, m1E 组、m5E 组 LTP 降低 ($P<0.05$); m1E 组与 m5E 组之间差异无统计学意义 ($P=0.282$) (图 4)。DE' 组、

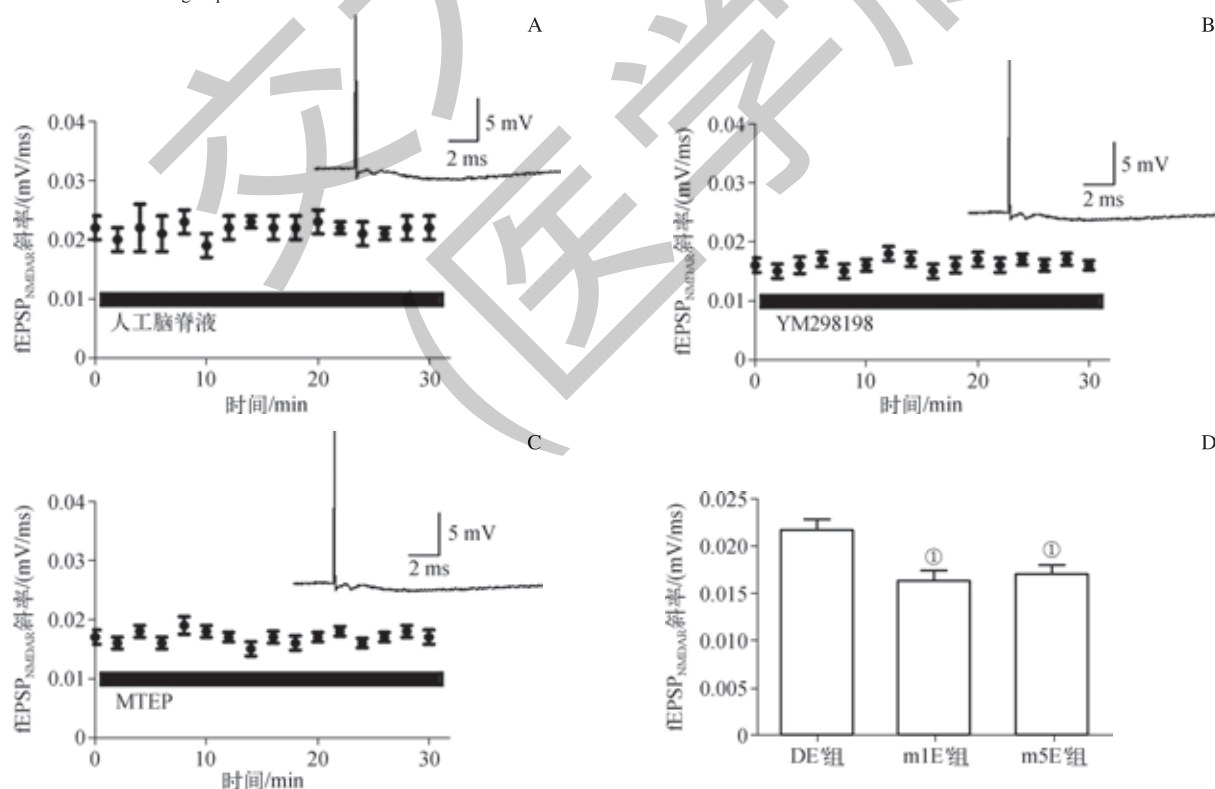
m1E' 组、m5E' 组大鼠海马 SC-CA1 神经通路 fEPSP_{NMDAR} 组间差异具有统计学意义 ($F=71.84$, $P<0.05$); 与 DE' 组相比, m1E' 组、m5E' 组 fEPSP_{NMDAR} 降低 ($P<0.05$); m1E' 组与 m5E' 组之间差异无统计学意义 ($P=0.294$) (图 5)。



注: A. DE 组, 灌流常规人工脑脊液; B. m1E 组, 人工脑脊液中加入 mGluR1 阻断剂 YM298198 ($1 \mu\text{mol/L}$); C. m5E 组, 人工脑脊液中加入 mGluR5 阻断剂 MTEP (500 nmol/L); D. 各组大鼠 LTP 检测结果统计图 ($^{\circ}P=0.000$, 与 DE 组比较)。黑线和红线的轨迹代表 HFS 刺激前、后的 fEPSP

图 4 各组大鼠 LTP 检测结果

Fig 4 LTP test results in each group



注: A. DE' 组, 灌流常规人工脑脊液; B. m1E' 组, 人工脑脊液中加入 mGluR1 阻断剂 YM298198 ($1 \mu\text{mol/L}$); C. m5E' 组, 人工脑脊液中加入 mGluR5 阻断剂 MTEP (500 nmol/L); D. 各组大鼠 fEPSP_{NMDAR} 检测结果统计图 ($^{\circ}P=0.000$, 与 DE 组比较)。黑线代表 0.2 mA 刺激后 fEPSP_{NMDAR} 的轨迹图

图 5 各组大鼠 fEPSP_{NMDAR} 检测结果

Fig 5 fEPSP_{NMDAR} results in each group

3 讨论

本实验中大鼠经过 CUMS 处理后出现抑郁状态, 表现为 SPP 降低, MECS 处理后 SPP 升高, 表明 MECS 具有一定的抗抑郁作用。Morris 水迷宫实验结果显示: MECS 在抗抑郁同时, 动物具有明显的空间学习记忆功能损伤, 表现为 EL 延长, SET 缩短; 而小剂量氯胺酮复合下的 MECS 具有相对的空间学习记忆功能保护作用, 表现为 EL 缩短, SET 延长。

有研究^[17]显示, 抑郁患者前额叶、顶叶皮层、下丘脑、海马、扣带回等多个脑区 I 型 mGluR 表达量发生变化, 且与患者的抑郁程度有一定的相关性, 抑郁程度越重, 其表达量降低越明显。我们的研究发现, 抑郁大鼠海马组织细胞膜上 I 型 mGluR 表达降低。I 型 mGluR 是谷氨酸能神经系统促代谢性受体。研究显示抑郁患者谷氨酸能神经系统出现严重功能紊乱, 兴奋性谷氨酸递质释放增加, 大量异常释放的谷氨酸可激活突触后膜的离子型和促代谢性谷氨酸受体, 受体在被过度激活后可能引起其在细胞膜上表达降低, 以此来平衡突触间的兴奋传递^[4, 18], 而 I 型 mGluR 参与了空间学习记忆的过程, 其表达量的降低可能引起了空间学习记忆功能损伤。

MECS 的治疗效应是诱发癫痫样放电, 在本质上与自发性或药物性癫痫类似^[19]。研究^[20]显示, 匹鲁卡品诱发大鼠癫痫后海马和齿状回等脑区 I 型 mGluR 蛋白表达降低, 其 mRNA 表达量也降低。本研究发现, 经过 MECS 处理后大鼠海马组织细胞膜上 I 型 mGluR 蛋白表达量降低; 而 I 型 mGluR 与学习记忆功能密切相关, MECS 所引起的空间学习记忆功能损伤可能与其降低海马 I 型 mGluR 表达有关。

NMDAR1 是 NMDAR 的必备亚基, 可用 NMDAR1 表达量代表功能性 NMDAR 数量。本研究以及前期研究^[6]发现小剂量氯胺酮可能通过阻断 NMDAR 过度激活从而防止 NMDAR 在细胞膜上表达下调, 起到对学习记忆功能的保护作用。NMDAR 与 I 型 mGluR 在突触后膜通过骨架蛋白 Homer-Shank-PSD95 紧密相连。本研究发现小剂量

氯胺酮阻断 NMDAR 激活, 升高 MECS 后海马细胞膜上 NMDAR 表达的同时, 可能通过 NMDAR 与 I 型 mGluR 结构上的关联性, 稳定了 NMDAR-I 型 mGluR 蛋白复合体的空间构象, 相对增加了 I 型 mGluR 表达。

海马 SC-CA1 神经通路 NMDAR 介导的 LTP 是学习记忆的生物学基础。本研究显示大鼠海马脑片灌流的人工脑脊液中加入 mGluR1 和 mGluR5 阻断剂均可降低抑郁大鼠 SC-CA1 神经通路 HFS 诱导的 LTP。本研究在电生理水平上明确了 I 型 mGluR 对与抑郁大鼠学习记忆相关的 LTP 具有促进作用。同时, SC-CA1 神经通路 HFS 诱发 LTP 需要激活突触后膜的 NMDAR^[21], NMDAR 是配体和电压双门控的离子通道, NMDAR 的场电位可反映 NMDAR 的激活状态。本实验进一步发现人工脑脊液中加入 mGluR1、mGluR5 阻断剂能够降低抑郁大鼠海马 SC-CA1 神经通路 fEPSP_{NMDAR}。I 型 mGluR 对 LTP 的调节作用可能是通过增强 NMDAR 的激活状态^[22]。该实验结果也与蛋白质检测结果相吻合: 小剂量氯胺酮复合下的 MECS 可升高海马组织细胞膜 mGluR1 和 mGluR5 蛋白表达, 而 mGluR1 和 mGluR5 蛋白对抑郁大鼠空间学习记忆功能起到促进作用。

本实验中氯胺酮的剂量为 10 mg/kg, 而临床研究发现 0.5 mg/kg 氯胺酮可产生快速、强效、持久的抗抑郁作用。通过人类与大鼠的剂量换算以及本团队前期研究^[4, 6]发现, 10 mg/kg 氯胺酮可出现快速抗抑郁作用, 并不引起大鼠步态不稳、共济失调等瞻望样不良反应, 在复合应用于 MECS 时可起到对学习记忆功能的保护作用。

本研究的不足之处: 我们仅检测了海马组织细胞膜上 NMDAR1 和 I 型 mGluR 的蛋白表达水平, 未对突触内和突触外的蛋白表达进行测量; 其次 I 型 mGluR 增强 NMDAR 激活状态具体信号通路还需进一步研究。综上所述, MECS 引起学习记忆功能损伤可能与其降低海马组织细胞膜 NMDAR 和 I 型 mGluR 有关, 而小剂量氯胺酮可上调 NMDAR 和 I 型 mGluR 蛋白表达量, 增强 NMDAR 激活状态, 这可能是其保护抑郁大鼠 MECS 后学习记忆功能的机制所在。

参·考·文·献

- [1] Vos T, Abajobir AA, Abate KH, et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016[J]. *Lancet*, 2017, 390(10100): 1211-1259.
- [2] Fang X, Zhang C, Wu Z, et al. The association between somatic symptoms and suicidal ideation in Chinese first-episode major depressive disorder[J]. *J Affect Disord*, 2019, 245: 17-21.
- [3] Kaliora SC, Zervas IM, Papadimitriou GN. Electroconvulsive therapy: 80 years of use in psychiatry[J]. *Psychiatriki*, 2018, 29(4): 291-302.
- [4] Zhu X, Li P, Hao X, et al. Ketamine-mediated alleviation of electroconvulsive shock-induced memory impairment is associated with the regulation of neuroinflammation and soluble amyloid- β peptide in depressive-like rats[J]. *Neurosci Lett*, 2015, 599: 32-37.
- [5] Chen Q, Min S, Hao X, et al. Effect of low dose of ketamine on learning memory function in patients undergoing electroconvulsive therapy: a randomized, double-blind, controlled clinical study[J]. *J ECT*, 2017, 33(2): 89-95.
- [6] Hao X, Zhu X, Li P, et al. NMDA receptor antagonist enhances antidepressant efficacy and alleviates learning-memory function impairment induced by electroconvulsive shock with regulating glutamate receptors expression in hippocampus[J]. *J Affect Disord*, 2016, 190: 819-827.
- [7] Brakeman PR, Lanahan AA, O'Brien R, et al. Homer: a protein that selectively binds metabotropic glutamate receptors[J]. *Nature*, 1997, 386(6622): 284-288.
- [8] Tu JC, Xiao B, Naisbitt S, et al. Coupling of mGluR/Homer and PSD-95 complexes by the Shank family of postsynaptic density proteins[J]. *Neuron*, 1999, 23(3): 583-592.
- [9] Pisani A, Gubellini P, Bonsi P, et al. Metabotropic glutamate receptor 5 mediates the potentiation of N-methyl-D-aspartate responses in medium spiny striatal neurons[J]. *Neuroscience*, 2001, 106(3): 579-587.
- [10] Skeberdis VA, Lan J, Opitz T, et al. mGluR1-mediated potentiation of NMDA receptors involves a rise in intracellular calcium and activation of protein kinase C[J]. *Neuropharmacology*, 2001, 40(7): 856-865.
- [11] Frisbee JC, Brooks SD, Stanley SC, et al. An unpredictable chronic mild stress protocol for instigating depressive symptoms, behavioral changes and negative health outcomes in rodents[J]. *J Vis Exp*, 2015, 106(e53109): 5-8.
- [12] Moghimi M, Parvardeh S, Zanjani TM, et al. Protective effect of α -terpineol against impairment of hippocampal synaptic plasticity and spatial memory following transient cerebral ischemia in rats[J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2016, 19(9): 960-969.
- [13] Li J, Gong Q, Zhong S, et al. Neutralization of the extracellular HMGB1 released by ischaemic damaged renal cells protects against renal ischaemia-reperfusion injury[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2011, 26(2): 469-478.
- [14] Jo J, Son GH, Winters BL, et al. Muscarinic receptors induce LTD of NMDAR EPSCs via a mechanism involving hippocalcin, AP2 and PSD-95[J]. *Nat Neurosci*, 2010, 13(10): 1216-1224.
- [15] Salah A, Perkins KL. Effects of subtype-selective group I mGluR antagonists on synchronous activity induced by 4-aminopyridine/CGP 55845 in adult guinea pig hippocampal slices[J]. *Neuropharmacology*, 2008, 55(1): 47-54.
- [16] Steullet P, Neijt HC, Cuénod M, et al. Synaptic plasticity impairment and hypofunction of NMDA receptors induced by glutathione deficit: relevance to schizophrenia[J]. *Neuroscience*, 2006, 137(3): 807-819.
- [17] Deschwenden A, Karolewicz B, Feyissa AM, et al. Reduced metabotropic glutamate receptor 5 density in major depression determined by [11 C]ABP688 PET and postmortem study[J]. *Am J Psychiatry*, 2011, 168(7): 727-734.
- [18] Luo J, Min S, Wei K, et al. Propofol protects against impairment of learning-memory and imbalance of hippocampal Glu/GABA induced by electroconvulsive shock in depressed rats[J]. *J Anesth*, 2011, 25(5): 657-665.
- [19] Ishihara K, Sasa M. Mechanism underlying the therapeutic effects of electroconvulsive therapy (ECT) on depression[J]. *Jpn J Pharmacol*, 1999, 80(3): 185-189.
- [20] Tang FR, Lee WL, Yang J, et al. Expression of metabotropic glutamate receptor 1 α in the hippocampus of rat pilocarpine model of status epilepticus[J]. *Epilepsy Res*, 2001, 46(2): 179-189.
- [21] Elgersma Y, Fedorov NB, Ikonen S, et al. Inhibitory autophosphorylation of CaMK II controls PSD association, plasticity, and learning[J]. *Neuron*, 2002, 36(3): 493-505.
- [22] Curran B, O'Connor JJ. The pro-inflammatory cytokine interleukin-18 impairs long-term potentiation and NMDA receptor-mediated transmission in the rat hippocampus *in vitro*[J]. *Neuroscience*, 2001, 108(1): 83-90.

[收稿日期] 2019-06-06

[本文编辑] 吴 洋