

中南大学

博士学位论文

吗啡成瘾对海马组合突触可塑性的影响

姓名：曹栋

申请学位级别：博士

专业：精神病与精神卫生学

指导教师：郝伟

20090501

摘要

物质成瘾主要特征为持续地、失去控制地对成瘾物质的渴求,以及持续的复吸倾向。由于这些特征,物质成瘾的临床治疗显得困难重重。尽管物质成瘾的主要理论各持所见,但均认可与成瘾物质使用相关的环境线索,在触发对成瘾物质的渴求和复吸行为中起了重要作用,类似于条件化环境线索对成瘾记忆的提取。

海马在环境线索相关的学习记忆中起着重要作用。海马突触可塑性,主要是指活动或经验依赖的长时程增强(Long-term potentiation, LTP)和长时程抑制(Long-term depression, LTD),被认为是海马依赖的学习与记忆的细胞分子基础。既往吗啡成瘾对海马突触可塑性影响的研究,常常是以记录单个通路的突触效能改变为基础(例如低频刺激诱导 LTD、高频刺激诱导 LTP),进而阐明突触可塑性在成瘾行为中的作用及其可能的机制。然而,学习记忆的行为学研究往往采用两种事件的条件化训练来进行,如经典的条件反射是通过条件刺激和非条件刺激来建立联合型学习。在动物实验中运动敏感化是常见的成瘾模型,由于环境线索和成瘾物质使用建立的联合型学习,运动敏感化往往只有在条件化环境中才能有效表达。最近研究进展表明,大鼠海马 Schaffer-CA1 双通路也存在类似于经典条件反射的联合型学习记忆规律,两个通路之间在一定时间内的协同作用,可在两个通路同时诱导出 LTP 和 LTD,呈现为海马组合突触可塑性,体现了海马突触可塑性可能在学习记忆的编码过程中具有灵活性与稳定性的特点。鉴于条件化环境线索在成瘾记忆提取中的重要作用,我们认为基于双通路条件化作用的海马组合突触可塑性可能在成瘾过程中发挥着重要作用。

本研究采用了活体电生理、行为学、生化等方法,进行了三方面研究:(1)以海马 Schaffer-CA1 双通路技术为基础,研究了大鼠 Schaffer-CA1 组合突触可塑性的分布特点;(2)在此基础上,研究了吗啡成瘾对大鼠 Schaffer-CA1 双通路组合突触可塑性的影响;(3)研究了吗啡反复戒断对大鼠 Schaffer-CA1 双通路组合突触可塑性以及大鼠行为敏感化的影响,并采用了免疫印迹法(Western Blotting)测定 AMPAR (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate receptor)的 GluR1 (Glutamate receptor1) 及 GluR2/3 (Glutamate receptor2/3)亚单位,在一次戒断、三次戒断后在大鼠海马膜蛋白及突触小体的表达。

在第一部分海马组合突触可塑性实验中,我们首次证实了海马突触可塑性在 Schaffer-CA1 双通路上呈现出四种组合: LTD/LTD, LTP/LTP, LTP/LTD, LTD/LTP。这表明了在信息编码过程中, LTP 及 LTD 可能同时存在,呈现组合可塑性的特点,提供了信息处理过程中的稳定性,避免单一 LTP 或 LTD 产生时导致过度兴奋或抑制,同时由于不同突触的不同组合也提供了信息处理的灵活性。因此,推测信息加工可能是各种形式 LTD 与 LTP 的组合过程,类似于数字 0, 1 进行组合编码。这种组合编码似乎更加合理,因为它有助于提高记忆编码效率及记忆容量,并有利于突触权重 (Synaptic weight) 的精确调节。

在第二部分实验中,我们首次将海马 Schaffer-CA1 双通路技术应用用于吗啡成瘾的研究,我们发现慢性吗啡处理易化了 LTD (LTD/LTD),伴随着吗啡戒断易化的 LTD 出现恢复的趋势,在戒断第四天逆转为 LTP/LTD。我们认为这反映了突触效能的内稳态性适应 (Homeostatic adaptations) 过程,有利于吸毒和戒断相关线索建立条件化 (Contextual conditioning),形成牢固的物质成瘾记忆。由于 LTP/LTD 组合可塑性能被 NMDAR (*N*-methyl-D-aspartate receptor) 及 D1/D5 多巴胺受体阻断剂完全阻断,提示了通过激活多巴胺系统 D1/D5 受体,调控了谷氨酸系统的突触可塑性,可能是环境线索相关成瘾记忆的分子机制。

第三部分海马组合可塑性实验中,我们首次证实了三次戒断后 LTP 比一次戒断后的 LTP 幅值更大,持续更久,并表现为 LTP/LTP 组合;在行为敏感化实验中发现,三次戒断大鼠的自发活动均多于一次戒断 (GluR1 及 GluR2/3 在海马膜蛋白及突触小体表达的数据正在整理中)。结果提示多次戒断可进一步加强条件化环境线索相关的成瘾记忆,增强大鼠的觅药动机。进一步说明了戒断后的存在关键时间窗,促进了条件化环境线索相关成瘾记忆的形成,如能阻断 LTP 的形成,可能会熄灭环境线索相关联的成瘾记忆,从而减少条件化环境线索诱发的复吸行为。

ABSTRACT

Drug addiction is characterized by persistent and compulsive drug craving, drug seeking and persistence tendency to relapse, which is the major problem hampering clinical treatment of drug addiction. Ample evidence adds to a growing consensus that drug-associated contextual cues play an important role in triggering drug craving and relapse and the retrieval of addiction memory by conditioned contextual cues may be the underlying mechanism.

Hippocampus is known to be critical for the formation of certain type of memory including contextual cues-associated addiction memory. Hippocampal activity-dependent or experience-dependent synaptic plasticity, including Long-term potentiation (LTP) and Long-term depression (LTD), is believed to be the cellular and molecular mechanism which underlies hippocampus-dependent learning and memory. Hippocampal synaptic plasticity in the studies of morphine addiction is often examined by using one pathway recording technique, in which LTD is induced by low frequency stimulation (LFS) and LTP is induced by high frequency simulation (HFS). The results of those studies suggest that there should be a crosstalk between the potentiation or depression of hippocampal synaptic plasticity and the mechanism of addictive behavior. However behavioral learning, e.g. the classic

conditioning, is based on the association between conditioned and unconditioned stimuli and in the experiment of locomotor sensitization to morphine, locomotor sensitization may be expressed successfully only in the conditioned context, which is based on unconditioned stimulus (morphine injection) in the conditioned environment (open field). Recent study indicates that hippocampal combinatorial synaptic plasticity can be induced by a similar conditioning procedure that conditioned stimuli between two Schaffer-CA1 pathways within a certain timing window induces LTP and LTD simultaneously, which illustrates the flexibility and stability of hippocampal synaptic plasticity. Since conditioned contextual cues may make critical contribution to relapse, hippocampal combinatorial synaptic plasticity based on conditioning of two pathways should be a candidate mechanism for long-lasting and unforgettable addiction memory.

In the present study, using *in vivo* electrophysiological, behavioral and biochemical methods, we carried out three sets of experiments. In the first set of experiments, we examined the distribution of hippocampal combinatorial synaptic plasticity in two converging Schaffer-CA1 pathways in rat; in the second set of experiments, we examined the effects of morphine addiction on hippocampal combinatorial synaptic plasticity; in the third set of experiments, we examined the effects of repetitive withdrawal on hippocampal

combinatorial synaptic plasticity. We also used immunoblots (Western Blotting) to assess the expression of GluR1 (Glutamate receptor1) and GluR2/3 (Glutamate receptor2/3) subunits of the AMPAR, which is the major receptor responsible for the expression and maintenance of LTP and LTD, in the total membrane fraction and the synaptosome fractions of the hippocampus after one time and third times of morphine withdrawal.

In the first set of experiment, we demonstrated for first time that there are four types of combinatorial synaptic plasticity, i.e. LTD/LTD, LTP/LTD, LTD/LTP and LTP/LTP. The results implicate that LTD and LTP may coexist and concomitantly encode information, which provides the stability of the hippocampal synaptic plasticity and makes contribution to limit the tendency to drive synaptic strength towards potentially epileptogenic level of LTP or minimum value and shows the flexibility of encoding process which may be similar to encoding information by digital 0 and 1. Combinatorial plasticity may encode the information more efficiently and may enhance the capacity for the storage of memory traces compared with encoding process mediated by LTP or LTD independently, which provide the possibility to reset synaptic weight and update synaptic configuration delicately.

In the second set of experiment, we first introduced the dual Schaffer-CA1 pathways experiments to examine hippocampal

combinatorial synaptic plasticity after repeated morphine exposure. We observed that repeated morphine exposure facilitated LTD (LTD/LTD), which was gradually restored following morphine withdrawal. However on withdrawal day 4, LTP/LTD was induced. Thus, from drug taking to withdrawal, homeostatic adaptations and contextual conditioning may be the mechanism underlying contextual cues-associated addiction memory. Since LTD or LTP was fully blocked by antagonists to NMDAR and D1/D5 receptors, it seems that morphine may employ dopamine system to modulate glutamatergic LTP and LTD which may be the molecular mechanism of the conditioned contextual cues which can retrieve addiction memory.

In the third set of experiments, we demonstrated for first time that LTP after three times of withdrawal was enhanced as compared with that after one time of withdrawal and combinatorial plasticity was remarkable LTP/LTP as compared with LTP/LTD after one time of withdrawal. Consistent with this result, locomotor activity after three times of withdrawal was largely increased as compared with that after one time of withdrawal. *The data of the expression of GluR1 and GluR2/3 are in preparation.* Our findings suggest that the more times of withdrawal, the more possibilities of combinatorial plasticity would be LTP/LTP that may be responsible for stronger contextual cues-associated addiction memory and drug-seeking behavior. These results reveal that

acute withdrawal may be critical in the formation of contextual cues-associated addiction memory and effective block of hippocampal LTP induction may contribute to the extinction of contextual cues-associated addiction memory and thereby decrease the tendency to relapse evoked by conditioned contextual cues.

英文缩略词简表

英文缩写	英文全称	中文全称
AMPAR	α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate receptor	AMPA 受体
AP-5	2-amino-5-phosphonovaleric acid	2-氨基-5 磷酸基缬氨酸 (NMDAR 拮抗剂)
BAP	Backpropagating action potential	反向传播动作电位
BCM	the Bienenstock-Cooper-Munro model	BCM 模型
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor	神经营养因子
BLA	Basolateral amygdala	基底外侧杏仁核
CaMKII	Calcium/Calmodulin (CaM)-dependent protein kinase II	钙/钙调蛋白依赖的蛋白激酶 II
CS	Conditioned stimulation	条件刺激
cAMP	Cyclic adenosine monophosphate	环一磷酸腺苷
CPP	Conditioned place preference	条件性位置偏爱
D1/5	Dopamine receptor 1/5	多巴胺受体 1/5
DA	Dopamine	多巴胺
DG	Dentate gyrus	齿状回
DARPP	Dopamine and cyclic AMP regulated phospho-protein	DA 和 cAMP 调节的磷蛋白
CREB	Cyclic3',5'adenosine monophosphate response element binding protein	cAMP 反应元件结合蛋白
EC	Entorhinal cortex	内嗅皮层
EPSP	Excitatory postsynaptic potential	兴奋性突触后电位
Erk	Extracellular signal-regulated kinase	胞外信号调节激酶
GluR1	Glutamate receptor1	谷氨酸受体 1
GluR2/3	Glutamate receptor2/3	谷氨酸受体 2/3
ITDP	Input-timing-dependent plasticity	Input-timing 依赖的可塑性
LEA	Lateral entorhinal area	外侧内嗅区
HFS	High frequency simulation	高频刺激
LC	Locus coeruleus	蓝斑
LFS	Low frequency stimulation	低频刺激
LTD	Long-term depression	长时程抑制
LTM	Long-term memory	长时记忆
LTP	Long-term potentiation	长时程增强
MAGUKS	Membrane-associated guanylate kinases	膜连合鸟苷酸激酶
MAPK	Mitogen-activated protein kinase	促分裂原活化蛋白激酶
MEA	Medial entorhinal area	内侧内嗅区
mEPSCs	miniature excitatory postsynaptic currents	兴奋性突触后微电流
mGluRs	metabotropic glutamate receptors	代谢性谷氨酸受体
MTL	Medial temporal lobe	内侧颞叶
NAc	Nucleus accumbens	伏隔核

NMDAR	<i>N</i> -methyl-D-aspartate receptor	NMDA 受体
PHC	Parahippocampal cortex	海马旁回
PKA	Protein kinase A	蛋白激酶 A
PKC	Protein kinase C	蛋白激酶 C
PLC	Phospholipase C	磷脂酶 C
PP1	Protein phosphatases	蛋白质磷酸酶 1
PPD	Paired-pulse depression	配对-脉冲抑制
PPF	Paired-pulse facilitation	配对-脉冲易化
PRC	Perirhinal cortex	嗅周皮质
SLM	Stratum lacunosum-moleculare	腔隙（网状）分子层
SPM	Synaptic plasticity and memory	突触可塑性与记忆
SR	Stratum radiatum	辐射层
STDP	Spike-timing-dependent plasticity	Spike-timing 依赖的可塑性
STM	Short-term memory	短时记忆
TADP	Timing of afferent pathways dependent plasticity	输入时序依赖的可塑性
TARPs	Transmembrane AMPAR regulatory proteins	跨膜 AMPAR 调节蛋白
US	Unconditioned stimulation	非条件刺激
VDCCs	Voltage-dependent Ca ²⁺ channels	电压依赖钙通道
VTA	Ventral tegmental area	腹侧被盖区

原创性声明

本人声明，所呈交的学位论文是本人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。尽我所知，除了论文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得中南大学或其他单位的学位或证书而使用过的材料。与我共同工作的同志对本研究所作的贡献均已在在论文中作了明确的说明。

作者签名： 曹玲 日期： 2019 年 5 月 30 日

关于学位论文使用授权说明

本人了解中南大学有关保留、使用学位论文的规定，即：学校有权保留学位论文，允许学位论文被查阅和借阅；学校可以公布学位论文的全部或部分内容，可以采用复印、缩印或其它手段保存学位论文；学校可根据国家或湖南省有关部门规定送交学位论文。

作者签名： 曹玲 导师签名： _____ 日期： 2019 年 5 月 30 日

一、前言

1 海马突触可塑性与学习记忆

1.1 海马的结构与学习记忆功能

1.1.1 海马的结构

人类海马 (Hippocampus) 因整体外观类似海洋生物海马 (Sea horse) 而得名, 希腊文 *hippo* 代表 Horse, *kampos* 代表 Sea monster。海马由原 (古) 皮质构成, 属于边缘系统 (Limbic system), 与齿状回 (Dentate gyrus, DG)、下托 (Subiculum)、前下托 (Presubiculum)、旁下托 (Parasubiculum) 和内嗅皮层 (Entorhinal Cortex, EC) 共同组成海马结构 (Hippocampal formation)。

海马的解剖结构与组织学结构均呈现有序分层的特点, 在海马、齿状回、下托都只有一个细胞层 (Principal cell layer), 在齿状回称为颗粒细胞层 (Granule cell layer), 在海马称之为锥体细胞层 (Pyramidal cell layer), 海马锥体细胞层一般由 3-6 层锥体细胞构成。Ramón y Cajal (1911) 把海马分为接近齿状回的大细胞区 (*regio superior*) 和远端小细胞区 (*regio inferior*)。Lorente de Nó (1934) 把海马分为三个区域 (CA1, CA2, CA3), CA4 被认为是毗邻海马的齿状回多形层组织, 已不再作为海马的结构区域), CA2, CA3 类似 *regio superior* 区, CA1 类似 *regio inferior* 区。依据锥体神经元轴突和树突的发布特点, 自室床 (Alveus) 向内可分为: 始层 (Stratum oriens)、锥体层 (Stratum pyramidal)、辐射层 (Stratum radiatum)、腔隙层 (Stratum lacunosum) 和分子层 (Stratum molecular)。海马中的基本神经联系是以 EC-DG-CA3-CA1 的三突触联系回路结构为特征: (1) 内嗅皮层的第二层细胞发出穿通纤维 (Perforant fiber) 通过下托在齿状回的颗粒细胞形成突触联系。(2) 齿状回通过苔藓纤维 (Mossy fibers) 投射到 CA3 锥体细胞形成突触联系。(3) 从 CA3 锥体细胞发出的 Schaffer 侧枝 (Schaffer collateral) 投射到 CA1 区的锥体细胞形成突触联系。此外, 内嗅皮层的第二层细胞可直接投射到海马 CA3 锥体细胞形成突触联系; 内嗅皮层的第三层细胞则可直接投射到 CA1 锥体细胞远端顶树突 (Distal apical dendrites) 形成突触联系; CA3 锥体细胞通过 Commissural 纤维与对侧海马的 CA3, CA1 锥体细胞形成突触联系, 同侧的 CA3 锥体细胞间也有突触联系。海马 CA1 锥体细胞则可投射到下托和内嗅皮层形成回路结构。海马有序分层的解剖及组织结构, 便于记录突触活动以进行在体或离体脑片的电生理实验。

1.1.2 海马的学习记忆功能

早在上世纪 50 年代,一位名叫 H.M.的病人引发了人们对海马学习记忆功能的关注。当时 27 岁的 H.M.因罹患难治性癫痫而被施行了经验性手术治疗,切除双侧内侧颞叶(包括了海马前部三分之二)。术后病人不能形成新的事件记忆(Episodic memory)即顺行性遗忘,并出现了部分逆行性遗忘,病人记不起对术前几年间发生的事件,但仍然保留了对于术前很遥远事件的记忆(Scoville and Milner, 1957)。随后的类似病例均证实海马对新的事件性记忆的形成有关键作用。动物研究表明,损毁海马或使其功能失活可导致空间学习或记忆障碍(Morris et al., 1986; Tsien et al., 1996; Martin et al., 2005)。动物电生理(Berger et al., 1983)及人类的核磁共振影像研究(Gabrieli et al., 1997; Henke et al., 1997; Maguire, 2001)均证实事件性学习与记忆能激发海马活动。

现实生活中有这样的现象,看到某人某物似曾相识(熟悉),却无法回忆起在何时何地见过。有研究证实,回忆(Recollection)和熟悉(Familiarity)是再认记忆(Recognition memory)中两种不同功能过程,并由不同的内侧颞叶(Medial temporal lobe, MTL)亚结构来执行(Witter et al., 1989; Burwell, 2000)。人类及动物实验均表明海马及海马旁回与回忆有关,而嗅周皮质(Perirhinal cortex, PRC)与熟悉有关。在信息编码过程中,关于外界刺激本身的信息可能由嗅周皮质及外侧内嗅区负责加工处理,而刺激所处的环境(context)信息则由海马旁回及内侧内嗅区加工后汇集到海马进一步处理。啮齿类动物(Gaffan et al., 2004; Norman and Eacott, 2005)及灵长类动物(Malkova and Mishkin, 2003; Alvarado and Bachevalier, 2005)损毁实验证实,海马旁回损毁伴有事物地点(Object-location)再认障碍,而嗅周皮质损毁伴有事物(Object)再认障碍。基于此,在再认记忆过程中,海马被认为在建立事物与环境的联系方面起重要作用,因而,海马依赖的事物-环境联系(Contextual association)是回忆环节的重要内容;环境中事物的再认是熟悉的过程(Eichenbaum et al., 2007)(图 1)。

事件记忆往往涉及事件所经历的环境,包括事件发生的地点及事件发生的时序等(Healy and McNamara, 1996; Tulving, 2002)。大量研究证实事件发生的空间背景(Spatial context)能引发海马活动(Morris, 2001; Eichenbaum, 2004)。近来的研究表明,事件发生的时序线索(Temporal cues)能引发海马活动,证实了海马与事件记忆的时空环境(Spatiotemporal context)即记忆的“Where”“When”成分有关联(Manns et al., 2007)。

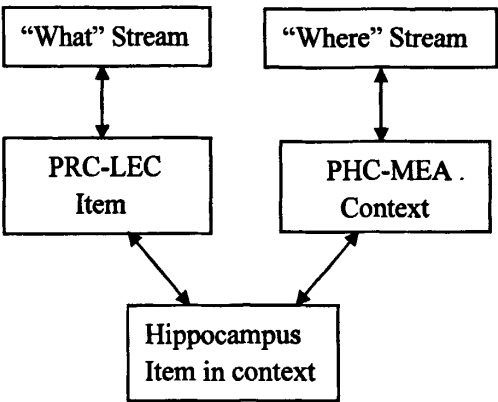


图. 1 内侧颞叶 (MTL) 系统的功能结构。大脑皮层把事物特征信息 (“What”) 投射至嗅周皮质 (PRC) 和外侧内嗅区 (Lateral entorhinal area, LEA), 而关于事物地点的信息 (“Where”) 投射至海马旁回 (Parahippocampal cortex, PHC) 和内侧内嗅区 (Medial entorhinal area, MEA)。这些信息投射至海马, 显示出处于环境中的事物。如反向投射, PHC-MEA 则与环境的回忆有关, 而 PRC-LEA 则与事物的熟悉有关。

1.2 海马突触可塑性

可塑性是哺乳动物大脑最重要也是最具吸引力的特质。突触可塑性是一种生理现象, 一般指活动 (或经验) 依赖的突触传递效能的修饰, 通过特殊的神经活动模式引起突触效能及神经兴奋性的改变, 该改变往往比触发特殊神经活动的事件更持久。事件引发的神经活动可引起神经环路的功能修饰进而修饰相应的认知和行为, 百余年前突触可塑性即被推测在把经历的事件整合入持久记忆痕迹的过程中起了重要作用。此外, 突触可塑性在神经回路的早期发育方面也起了关键作用, 大量证据表明损害突触可塑性可引起明显的神经精神障碍。研究不同脑区可塑性的分子机制, 对理解正常或病理性脑功能的神经基础显得尤为关键(Citri and Malenka, 2008)。

突触可塑性可分为短时程突触可塑性 (Short-term synaptic plasticity) 和长时程突触可塑性 (Long-term synaptic plasticity)。短时程可塑性一般指当两刺激在较短的时间间隔发出, 比较两个刺激所引发反应的强度, 如增强了即为配对-脉冲易化 (Paired-pulse facilitation, PPF), 反之则为配对-脉冲抑制 (Paired-pulse depression, PPD)。短时程可塑性大多由短促活动触发, 引起突触前钙离子暂时聚集从而导致调制突触囊泡胞吐作用的生化过程发生改变, 最终引发神经递质释放发生改变。短时程可塑性一般持续从数毫秒到数分钟不等, 往往对感觉输入的短时程适应、短时程改变行为状态及短时程记忆有重要作用。在哺乳动物的大脑中,

短时程可塑性发挥了过滤器 (Filter) 的作用, 例如当突触起初处于低递质释放可能性时, 就显示高通滤波器 (High-pass filter) 作用, 动作电位高频发放就会易化突触递质释放, 而低频发放则不会引起同等效能的突触传递, 反之亦然 (Abbott and Regehr, 2004)。

一般认为能引起后续行为改变的事件, 都或多或少伴有突触效能的长时程改变, 这已在科学界得到广泛认可。在大脑, 以复杂的时空活动模式, 编码内源性或外源性事件的神经元簇群被称为神经回路 (Neural circuits)。神经回路的关键特质被定义为构成该神经回路的各神经元间突触联系的突触权重。新信息的存储即记忆的生成伴随着相应神经回路的突触权重的长时程改变。突触活动与学习记忆的假设可追溯至百余年前, 西班牙诺贝尔奖获得者 Santiago Ramón y Cajal 提出记忆存储假设 (Bailey et al., 2000; Citri and Malenka, 2008), 认为信息存储是神经连接间的解剖改变所致。直到上世纪 40 年代后期被加拿大心理学家 Donald Hebb 进一步演绎: *“When an axon of cell A is near enough to excite cell B or repeatedly or consistently takes part in firing it, some growth process or metabolic change takes place in one or both cells so that A's efficiency, as one of the cells firing B is increased.”* (Hebb, 1949)。这种活动依赖的突触修饰 (后来称之为突触可塑性) 假说, 认为记忆痕迹的形成与同时活动的两事件有关, 也从某种程度上构成了行为学上经典条件反射 (Pavlov, 1927) 的细胞学基础。

1973 年, Bliss 及其合作者首次报道了齿状回活动依赖的兴奋性突触后电位 (Excitatory postsynaptic potential, EPSP) 长时程增强, 他们在麻醉的家兔上发现, 当用一个或几个频率为 10-20Hz, 串长为 10-15s 或者频率为 100Hz, 串长 3-4s 的电刺激作用于穿通纤维, 然后单个刺激就可以使海马齿状回的群体峰电位 (population spike, PS) 及 EPSP 幅度增大, 这种易化现象可以持续几个小时, 甚至几天 (Bliss and Gardner-Medwin, 1973; Bliss and Lomo, 1973)。这种符合 Hebb 假说的长时程增强现象最终被命名为 LTP, 被认为是学习记忆的分子细胞基础 (Martin et al., 2000; Pastalkova et al., 2006; Whitlock et al., 2006)。1977 年, Lynch 报道了海马脑片上长时程抑制 (LTD) 现象 (Lynch et al., 1977)。随后, Martin & Morris 等提出了突触可塑性与记忆的假说 (Synaptic plasticity and memory, SPM): *Activity-dependent synaptic plasticity is induced at appropriate synapses during memory formation, and is both necessary and sufficient for the information storage underlying the type of memory mediated by the brain area in which that plasticity is observed* (Martin et al., 2000)。

其它形式的活动依赖的可塑性还包括 Depotentiation (Barrionuevo et al., 1980;

Staubli and Lynch, 1990; Montgomery and Madison, 2002) 和 De-depression (Dudek and Bear, 1993), EPSP-spike (E-S) potentiation (Andersen et al., 1980; Abraham et al., 1985), Spike-timing 依赖的突触可塑性 (Spike-timing-dependent plasticity, STDP) (Bi and Poo, 1998; Dan and Poo, 2004), Input-timing 依赖的突触可塑性 (Input-timing-dependent plasticity, ITDP) (Dudman et al., 2007) 输入通路时序依赖的突触可塑性 (Timing of afferent pathways dependent plasticity, TADP) (Dong et al., 2008)

我们在体电生理工作主要在 Schaffer-CA1 近端突触展开, 频率依赖的常规方案诱导的 LTP 和 LTD 都是 NMDAR 依赖的突触可塑性。因此, 我们将着重介绍 NMDAR 依赖的高频诱导 LTP, 低频诱导 LTD 的特征、机制以及和学习记忆的关系。

1.2.1 活动依赖的海马突触可塑性

经典传统诱导方案诱出符合 Hebb 假说的活动依赖的海马突触可塑性, 具有频率依赖的特征, 即突触前高频刺激 (High-frequency stimulation, HFS) 输入诱导 LTP; 突触前低频刺激 (Low-frequency stimulation, LFS) 输入诱导 LTD。当然 LTP 也可通过低频配对刺激来实现, 即低频输入伴随突触后注入电流使之去极化 ($> -30\text{mV}$); 同样 LTD 也可通过低频配对刺激来实现, 即低频输入伴有较小的突触后注入电流使之轻度去极化 (Mulkey and Malenka, 1992; Dudek and Bear, 1993)。这里着重介绍 HFS 诱导的 LTP 及 LFS 诱导的 LTD 的特征及机制。

1.2.1.1 LTP 的特征及机制

1.2.1.1.1 LTP 的特征

基于 Hebb 假说的活动依赖的 LTP 有如下特征: (1) 协同性 (Cooperativity)。在高频刺激诱导过程中, 必须有一定数量的突触前输入纤维同时激活, 从而产生协同效应, 使突触后膜去极化到一定程度, 激活 NMDAR, Mg^{2+} 离开 NMDAR 的结合位点, 允许钙离子通过 NMDAR 内流, 实现 LTP 诱导。(2) 输入特异性 (Input (synapse) specificity)。只有参与诱导活动的突触才出现 LTP, 即只有突触后膜 NMDAR 激活的突触才能产生 LTP。同时也说明了具有同突触性, 事件触发所作用的突触, 与事件触发后效能增强的突触是同一突触, 即同突触的可塑性 (Homosynaptic plasticity)。(3) 联合性 (Associativity)。有两种解释, 一种解释认为是突触前递质释放与突触后去极化的联合作用导致 LTP; 另一种解释认为高频诱导 LTP 的同时, 能使邻近低频阈下刺激产生 LTP, 称之为联合性 (Bliss and Collingridge, 1993; Malenka, 2003)。

1.2.1.1.2 LTP 的机制

NMDAR 依赖的 LTP 的诱导机制

在突触后膜有两种对 LTP 诱导很关键的离子型谷氨酸受体即：AMPA 和 NMDAR。当细胞膜电位处于静息电位时，AMPA 对 Na^+ , K^+ 具有通透性，形成内向电流，而 NMDAR 由于胞外 Mg^{2+} 的阻断作用处于关闭状态，因此 NMDAR 对基础突触活动基本没有作用。突触后膜去极化到一定程度（从 -70 到 -30mV ）的(Wu et al., 2001), Mg^{2+} 离开 NMDAR 的结合位点，突触后膜 NMDAR 允许 Ca^{2+} , Na^+ 内流进入突触后树突棘，达到某关键阈值就能激活 LTP 所需的生化过程(Malenka, 1991; Malenka and Nicoll, 1993)。通过 50-200Hz 高频刺激(HFS)或者配对刺激可直接诱导突触后膜去极化及 Ca^{2+} 内流。通过突触前释放谷氨酸，突触后膜去极化，加上突触活动的协同性、联合性，使突触后膜充分去极化，最终导致 LTP 被成功诱导(Nicoll et al., 1988)。

LTP 诱导过程中的信号转导机制

大量的信号转导分子参与了将钙信号转化为持久的突触效能增强，大多起到了调制作用（是一种 Modulator），钙调蛋白依赖的蛋白激酶 II（Calcium/Calmodulin (CaM)-dependent protein kinase II, CaMKII）是诱导 LTP 的关键成分（是一种 Mediator）。CaMKII 在 LTP 诱导后，能自身磷酸化(Fukunaga et al., 1995; Barria et al., 1997)，基因敲除 CaMKII 的关键亚单位(Silva et al., 1992)或 Knock-in 没有自身磷酸化功能的 CaMKII 亚单位(Giese et al., 1998)，均可导致 LTP 不能被诱导。然而，提高突触后 CaMKII 浓度则可增强突触传递，LTP 也不能被诱导（Occlusion）(Pettit et al., 1994; Lledo et al., 1995)。

此外，环一磷酸腺苷依赖的蛋白激酶 A（Protein kinase A, PKA），能间接激活 CaMKII(Lisman, 1989; Blitzer et al., 1998; Makhinson et al., 1999)。胞外信号调节激酶-促分裂原活化蛋白激酶通路（The extracellular signal-regulated kinase (Erk)/mitogen-activated protein kinase (MAPK)）对 LTP 诱导及学习记忆也有重要作用(Sweatt, 2004; Thomas and Huganir, 2004)。Src 激酶在 LTP 诱导过程中能提高 NMDAR 的功能(Kalia et al., 2004)，蛋白激酶 C（Protein kinase C, PKC）特别是 PKC 的同工酶 PKM ζ ，对 LTP 的诱导及维持均有作用(Hrabetova and Sacktor, 1996; Ling et al., 2002; Serrano et al., 2005; Pastalkova et al., 2006)。

LTP 的表达机制

目前认为海马 CA1LTP 的表达是通过活动依赖的 AMPAR 转运 (AMPAR trafficking) 来实现的, LTP 表达期间突触后膜 AMPAR 受体数量增加 (Malenka and Nicoll, 1999; Malinow and Malenka, 2002; Brecht and Nicoll, 2003; Derkach et al., 2007)。AMPAR trafficking 机制的发现得益于沉默突触假说 (Silent synapse hypothesis), 该假说认为沉默突触由于极少或没有 AMPAR, 因此在静息状态下没有活性, 在 LTP 的诱导过程中, AMPAR 的插入导致沉默解除 (Unsilencing)。该假说直接导致了 LTP 的表达与 AMPAR trafficking 的研究 (Malinow and Malenka, 2002; Sheng and Kim, 2002; Song and Huganir, 2002; Brecht and Nicoll, 2003; Collingridge et al., 2004)。AMPAR 有四种亚单位, GluR1-GluR4, 在成年海马中主要有两种形式的 AMPAR 即 GluR1/GluR2 异构体和 GluR2/GluR3 异构体 (Wenthold et al., 1996)。NMDAR 激活后, 含 GluR1 的 AMPAR 转运加快。一般认为树突内存在反复循环的富含 AMPAR 的内涵体 (Recycling endosomes), 在 LTP 诱导后通过 GTP 结合蛋白 Rab11a 而被动员 (Park et al., 2004)。AMPAR 首先通过胞吐作用而弥散分布在外侧胞膜, 通过槽蛋白 (Slot proteins) - 膜连合鸟苷酸激酶 (membrane-associated guanylate kinases, MAGUKS) 而被锚定突触后致密区 (postsynaptic density, PSD)。MAGUK 家族的 PSD 蛋白包括 PSD-95, SAP97, PSD-93 和 SAP102 (Kim and Sheng, 2004; Montgomery et al., 2004)。PSD-95 水平对控制 AMPAR 数量尤为重要, PSD-95 表达增多能增加突触效能, LTP 不能被诱导 (Occlusion) (Stein et al., 2003; Ehrlich and Malinow, 2004)。MAGUK 不直接与 AMPAR 接触, 通过跨膜 AMPAR 调节蛋白 (transmembrane AMPAR regulatory proteins, TARPs) 把 AMPAR 转运至突触外胞膜上 (Chen et al., 2000; Nicoll et al., 2006)。激活 CaMKII、PKA 及 PKC 磷酸化 AMPAR 亚单位可能重要, 但不是关键性的 (Esteban et al., 2003; Lee et al., 2003; Boehm et al., 2006)。激活 CaMKII 磷酸化 TRAP 对 LTP 可能很关键。CaMKII 磷酸化 GluR1 C 末端 Ser831, 能提高 GluR1 同源体的电导性 (Conductance) (Derkach et al., 1999; Derkach et al., 2007), 但一旦与 GluR2 结成异构体则该现象消失 (Oh and Derkach, 2005)。

在 LTP 诱导后的起初 1 小时, 可能有如下连续事件: LTP 被诱导, 激活钙依赖信号转导通路, 特别是 CaMKII, 导致 GluR1 磷酸化, AMPAR 胞吐、侧移, 插入 PSD, 最后插入 PSD 这一步可能最为重要。此外, 可能通过 BDNF 逆传信息, 突触前膜在 LTP 诱导后也有相应变化 (Bramham and Messaoudi, 2005)。

LTP 的维持

晚期 LTP (Late phase of LTP or Long-lasting LTP, L-LTP) 一般指诱导 1-2h 以

后, 伴随转录及蛋白质合成过程的 LTP(Sutton and Schuman, 2006; Zhou et al., 2006)。许多蛋白激酶包括 PKA, CaMKIV, Erk-MAPK 等, 能激活关键的转录因子包括 cAMP 反应元件结合蛋白 (cAMP response element-binding protein, CREB), 即刻早期基因如 c-FOS 和 Zif268/Egr-1(Thomas and Huganir, 2004)。Synaptic Tag 被认为能稳定增强的突触效能, 目前还不能确定 Tag 的成分, 可能与 PKA, CAMKII, 或 PKM ζ 有关(Sajikumar et al., 2005; Young et al., 2006; Reymann and Frey, 2007)。伴随 LTP 的发生, 突触形态学也发生改变, 包括形成新的树突棘, 以前存在的树突棘和 PSD 增大, 以及把单个的 PSD 及树突棘分为两个功能突触等(Yuste and Bonhoeffer, 2001; Abraham and Williams, 2003; Matsuzaki et al., 2004)。

1.2.1.2 LTD 的特征及机制

经典诱导 LTD 的方案是反复的持续的低频刺激 (900 个频率为 1Hz 的刺激)(Dudek and Bear, 1992; Mulkey and Malenka, 1992), 与 LTP 类似, LTD 也具备输入特异性的特点(Dudek and Bear, 1992)。主流的观点认为突触后钙信号量上的差异, 决定着 LTP 或 LTD 的诱导, LTD 需要较温和的 Ca^{2+} 浓度升高(Malenka, 1991)突触后 Ca^{2+} 水平能实现 LTP 和 LTD 转换(Nishiyama et al., 2000; Harney et al., 2006)。通常 0.5-3Hz 的低频刺激能诱导出 LTD, LTD 的幅值会随年龄增长而减小。此外, 低频刺激在未成年海马的 Schaffer 侧支较易诱导出 LTD (大鼠一般小于 4 周龄), 也可能在生长发育过程中, LTD 参与了修剪不必要的突触联系。

LTD 的信号转导机制

LTD 诱导需要激活钙依赖的蛋白质磷酸化进而引发级联反应, 例如: 钙依赖的磷酸酶 (蛋白质磷酸酶 2B), 蛋白质磷酸酶 1 (Protein phosphatases 1, PP1) 和磷蛋白 inhibitor-1 (主要抑制 PP1 的功能, 直到 PP1 被去磷酸化) (Blitzer et al., 1998)。阻断突触后磷酸酶则能阻断 LTD(Mulkey et al., 1993; Kirkwood and Bear, 1994; Mulkey et al., 1994; Morishita et al., 2001)。在 CA1 锥体细胞给予 PP1 则易化 LTD(Morishita et al., 2001)。尽管有报道除磷酸酶以外的其它信号蛋白在 LTD 的诱导中发挥作用, 主流观点仍然认为诱导 LTP 的过程优先激活蛋白激酶, 诱导 LTD 主要激活磷酸酶。

LTD 与突触后 PKC, PKA 底物的去磷酸化有关联(Hrabetova and Sacktor, 1996; Kameyama et al., 1998; Lee et al., 1998; Lee et al., 2000)。特异性的 PKA 底物去磷酸化, 可导致 NMDAR 依赖的 PP1 在突触部位增多(Morishita et al., 2001), 而 PKA 则选择性减少(Gomez et al., 2002; Snyder et al., 2005)。与 PKA 是功能相一致的是

LTD 伴随着选择性 GluR1 的 Ser845 去磷酸化（系 PKA 作用位点）(Lee et al., 2000)。小鼠在 Ser845 和 Ser831 位点（CAMKII 作用部位）Knock-in 丙氨酸，损害了 NMDAR 依赖的 LTD(Esteban et al., 2003)。

LTD 表达机制

目前主流观点认为 NMDAR 依赖 LTD 的表达机制是由于活动依赖的 AMPAR 内吞(Malinow and Malenka, 2002; Brecht and Nicoll, 2003; Malenka and Bear, 2004; Derkach et al., 2007)。AMPA 内吞受钙依赖去磷酸化作用调节(Beattie et al., 2000; Ehlers, 2000; Carroll et al., 2001)。LTD 过程中 AMPAR 内吞的确切分子机制目前尚不清楚。

1.2.2 其它形式突触可塑性

1.2.2.1 时序依赖的突触可塑性

传统经典活动依赖的 LTP, LTD, 显示了诱导频率依赖性, 即高频刺激诱导 LTP, 低频刺激诱导 LTD。Levi & Steward 首先报道了 LTP, LTD 的时序依赖性, 当从 EC 到 DG 的弱刺激先于从 EC 到 DG 的强刺激 20ms 以内, 则突触效能增强; 反之则突触效能减弱(Levy and Steward, 1983)。

1.2.2.1.1 Spike-timing 依赖的突触可塑性

Bi & Poo 等证实, 突触前的输入先于突触后 Spiking 或先于反向传播动作电位 (Backpropagating action potential, BAP) 数十毫秒, 则诱导出 LTP, 反之则诱导出 LTD(Bi and Poo, 1998)。BAP 能易化镁离子离开 NMDAR, 从而允许钙内流。LTP 诱导的时间窗与镁离子离开 NMDAR 的动力学变化以及 EPSP 与 BAP 的相互作用有关。在海马 CA1 区域, EPSP 能使树突去极化, 使得 A 型钾通道失活, 能促进 BAP 在数十毫秒内到达(Magee and Johnston, 1997; Watanabe et al., 2002)。STDP 中, LTP 的诱导需要 NMDAR 激活, 而 LTD 的诱导有时不需要 NMDAR 激活, 可通过激活代谢性谷氨酸受体 (metabotropic glutamate receptors, mGluRs), 导致磷脂酶 C (Phospholipase C, PLC) 激活, 钙离子通过电压依赖的钙通道 (voltage-dependent Ca^{2+} channels, VDCCs) 内流, 导致 LTD 被诱导(Caporale and Dan, 2008)。此外, 内源性大麻素在短时程及长时程抑制中的起重要作用(Chevalleyre et al., 2006), LTD 的诱导往往需要突触前的内源性大麻素受体的信号转导(Bender et al., 2006; Nevian and Sakmann, 2006)。

1.2.2.1.2 Input-timing 依赖的突触可塑性

来自 EC 的感觉信息通过穿通通路 (Perforant path) 直接投射到腔隙 (网状)

分子层 (Stratum lacunosum-moleculare, SLM), CA1 远端树突。来自 CA3 锥体神经元的 Schaffer collateral 投射到辐射层 (Stratum radiatum, SR), CA1 的近端树突。信息从 EC 到达 CA1 远端树突比到达 CA1 近端树突的快 10-20ms (Yeckel and Berger, 1990)。在离体海马脑片上, 远端输入先于近端输入 20ms, 以 1Hz 频率配对刺激 90s, 在近端 Schaffer collateral-CA1 突触诱导出 LTP。这种形式的异突触可塑性被称为: Input-timing 依赖的可塑性 (Input-timing-dependent plasticity, ITDP)。在离体脑片上诱导的 ITDP 不需要胞体的 Spiking 发放, 但需要激活 NMDAR, 以及 IP3 受体依赖的钙离子释放 (Dudman et al., 2007)。

1.2.2.1.3 输入时序依赖的突触可塑性

当配对刺激 (600 pulses, 5Hz) 作用于戊巴比妥钠麻醉的大鼠一侧海马 Schaffer 通路和对侧 Commissural 通路时, 在 40ms 以内的配对时间窗 (经过 fEPSP peak latency 矫正), 可在双通路上诱导出 NMDAR 依赖的 LTP/LTP 组合可塑性。以乌拉坦麻醉或在自由移动清醒状态下, 则可诱导出 LTP/LTD 组合可塑性。在同侧海马 Schaffer 双通路上也出现了类似现象。这种时序依赖的低频配对诱导的在体双通路可塑性被称为: 输入时序依赖的突触可塑性 (Timing of afferent pathways dependent plasticity, TADP)。实验也证实了 LTP/LTP 与 LTP/LTD 之间的转换, 可能是由于海马 Theta 节律的改变有关 (Dong et al., 2008)。

1.3 海马突触可塑性与学习记忆的关系

尽管 LTP、LTD 被广泛认可, 但这只是实验现象, 用来说明不同的活动模式会出现突触效能的双向调节。要想建立突触可塑性与特异性事件的因果联系, 那是令人望而生畏的想像。近来, Bear MF 等采用在海马的多电极记录技术, 发现海马依赖的一次行为学习, 在海马 CA1 可记录到类似 HFS 诱导的 LTP, 生化实验发现 GluR1Ser831 磷酸化增多 (Whitlock et al., 2006)。LTP 究竟是否为学习记忆的充分必要条件呢?

1.3.1 LTP 与学习记忆的关系

必要性, LTP 是学习记忆必须的?

支持的理由: 在早期的动物实验中发现, 海马注射选择性 NMDAR 阻断剂 AP-5 (2-amino-5-phosphonovaleric acid), 显著损害了 Morris 水迷宫的学习, AP-5 阻断了海马 LTP, 而没有影响基础突触传递 (Morris et al., 1986); 近期的实验显示, 海马注射蛋白激酶 PKM ζ 的特异性抑制剂, 能损害空间记忆同时阻断 LTP, 即便在记忆获取或 LTP 诱导数天以后, 同样对基础突触传递没有影响 (Pastalkova et al., 2006); 有报道采用病毒载体干扰 GluR1 trafficking, 影响 LTP 的表达, 从而干扰

杏仁核依赖的线索-恐惧条件反射,提出 LTP 对线索-恐惧学习是必须的(Rumpel et al., 2005);迄今为止,与阻断 LTP 最为平行的动物实验,可能是可逆性的、选择性的使海马 CA1 的 NMDAR 中 NR1 亚单位失活,结果显示 LTP 及空间学习均受到抑制(Shimizu et al., 2000)。

反对的理由:阻断 NMDAR 同时影响着其它过程,例如 E-S potentiation(Jester et al., 1995)及 LTD(Yuste and Bonhoeffer, 2001),减低了短阵高频激活的突触后反应等(Herron et al., 1986),而这些过程都会影响信息的存储;上述的实验设计无法真正做到,干预措施仅仅影响了 LTP 的诱导或表达,而不影响其它任何过程,即便经过基因工程处理的,也涉及处理后的生理性代偿问题。

也有报道 GluR1 敲除后传统高频刺激在 CA1 不能诱导出 LTP,然而并不影响在 Morris 水迷宫的学习与记忆(O'Keefe, 1993)。一方面,动物可能在学习的过程中有 LTP 形成,只是不知道采用了何种诱导方式;另外,海马接受信息的通路也不仅仅在 Schaffer/commissural 通路。因此,即便不能说 LTP 是学习所必须的,但它仍然是大脑学习与记忆的首选的细胞与分子机制。

充分性,有了 LTP 就有了学习与记忆?

由于对事件性记忆在海马或大脑皮层的编码过程知之甚少,即便可以通过实验手段调整突触权重,但不知道该选择哪些突触。或许其他脑区有可能实现该假设。例如在小脑有规则的结构回路,未经处理的体感及运动信息被投射到小脑皮层的浦肯野细胞,通过小脑皮层和或深部小脑核团的突触可塑性来介导运动学习(Marr, 1969; Ito and Kano, 1982; McCormick and Thompson, 1984; Attwell et al., 2002)。这些结构有与人体对应的二维定点图,有可能通过某处神经可塑性的变化,实现介导特定的肌肉反应。这方面实验,最好的功能结构部位,可能是兔的眨眼反射(Mauk et al., 1986; Attwell et al., 2002),有希望建立突触可塑性与运动学习的因果联系。

1.3.2 LTD 与学习记忆的关系

以往认为 LTD 对学习记忆主要起两方面的作用,其一是遗忘(Dayan and Willshaw, 1991),一般认为 LTP 与新信息的学习有关, LTD 则去除不需要的旧信息,保持一种学习与记忆的动态平衡;其二是提高信噪比(Tsumoto, 1993),通过 LTD 过滤不必要的信息。有研究认为在空间探索过程中,对新空间的学习可在 CA1 诱导出 LTP;对地貌(Landmark)的编码及方向信息往往由齿状回 LTD 介导;对空间特征或细节的编码则表现为 CA1LTD。所以, LTP 及 LTD 可能联合编码事件记忆(Kemp and Manahan-Vaughan, 2007)。

1.3.3 突触可塑性的稳定性与灵活性

如果突触可塑性是信息加工及短时存储的细胞分子基础,随着新信息源源不断涌入,突触可塑性可能处于一种动态变化之中,一些信息需不断的学习巩固,一些信息需及时去除,有些陈旧的记忆也有可能进行适当的更新。如果以突触权重来代表某一信息的记忆编码,一方面需要其保持稳定性(Stability),以便于记忆的巩固,稳定性还有一层含义,由于突触可塑性的诱导过程是个正反馈的过程(Abbott and Nelson, 2000),它需要某种机制保持总体稳定性,这里主要介绍高级可塑性(Metaplasticity)和稳态可塑性(Homeostatic plasticity);另一方面突触权重由于自身衰减(Decay)或局部新内容的更新或者由于新的学习形成全新的突触权重,那便需要有灵活性(Flexibility)(Abraham and Robins, 2005)。

1.3.3.1 突触可塑性的稳定性

LTP 的稳定性

LTP 是学习记忆的细胞分子机制得到了较多的公认, LTP 是否能在持续时间上与长时程记忆相匹配? 研究证实在 CA1 的 LTP 可存在数周(Staubli and Lynch, 1987),而海马齿状回 LTP 据报道可持续数月之久(Abraham et al., 2002; Abraham, 2003)。这样至少在持续时间上,为 LTP 的稳定性提供了证据。也就表明如果信息经过学习获得后,并以突触可塑性的形式编码保存,那么 LTP 是有可能伴随着记忆信息或记忆痕迹的巩固或再巩固而持续稳定存在着,从而为记忆的长久保留提供了可能的细胞分子机制(Abraham and Robins, 2005)。

高级可塑性 (Metaplasticity)

突触效能改变的强度与方向会因为以前突触活动的历史而发生变化。这种现象被称为高级可塑性(Abraham and Bear, 1996)。例如,高频强直刺激后能抑制随后 LTP 的诱导(Dayan and Willshaw, 1991),易化 LTD 的诱导(Holland and Wagner, 1998)。高级可塑性的理论基础是 BCM 模型(the Bienenstock-Cooper-Munro (BCM) model) (Bienenstock et al., 1982),认为低水平的突触后活动导致 LTD,高水平的突触活动导致 LTP。决定突触效能变化方向的临界值叫修饰阈值 θ_M ,如突触效能水平低于这个阈值,则突触效能变化趋于负向,突触效能减弱,易化 LTD;高于这个阈值,突触效能变化趋于正向,突触效能发生增强,易化 LTP。修饰阈值 θ_M 会因条件的改变而左右移动,突触效能增强的历史会使 θ_M 右移到更高的值,这就需要更高的刺激强度才发生突触效能增强,因而易于诱导出 LTD。相反,突触效能减弱的历史会使 θ_M 左移,这样就较容易产生突触效能增强,易于诱导出 LTP。在 CA1 的脑片上,给予一系列频率的强直刺激,出现了符合 BCM 曲线的

突触效能变化以及高级可塑性,也出现了修饰阈值 θ_M 的移动。随后,高级可塑性又有了新的观点,活动依赖性的 NR2A/NR2B 比率可能决定了高级可塑性的突触修饰阈值 θ_M (Bear, 2003; Morishita et al., 2007)。

由于符合 Hebb 假说的突触可塑性的诱导过程是个正反馈的过程(Abbott and Nelson, 2000),高级可塑性假说,从突触历史活动的角度,为整体突触可塑性的稳定性提供了一种调节机制。这种调节机制既能限制突触效能的过度增强,反之,也防止了突触效能降到 0 的可能。

稳态可塑性 (Homeostatic plasticity)

神经元有种自我调整机制,以兴奋性突触为例:通过钙依赖感受器调整谷氨酸受体的转运 (Trafficking),上调或下调谷氨酸受体的聚集;通过限定兴奋性突触的发放比例 (Scaling),上调或下调整个神经元的兴奋性突触的效能来稳定神经元的发放 (Firing)。因而稳态可塑性也是一种突触可塑性,也是一种细胞层面的负反馈调节机制(Turrigiano, 2008)。

基于 Hebb 假说的突触可塑性,如 LTP、LTD 具有不稳定性(Abbott and Nelson, 2000),具有使突触效能无限增强或无限降低的倾向,可导致突触可塑性饱和并失去输入特异性。1998 年 Turrigiano 等,首先在大脑皮层培养细胞上报道了“Synaptic scaling”(即在神经调控网络内的神经活动,都会引起相反的代偿反应,从而使得平均发放率保持相对稳定),从此引入了神经活动稳定性的新概念:神经元的平均活性就象其它生理变化一样,都受到经典内稳态负反馈 (Homeostatic feedback) 的调控,通过调定点 (Set-point) 的设定,恢复平衡与稳定(Turrigiano et al., 1998)。但是信息传递往往在数毫秒到数分钟内既已完成,而突触 Scaling 的整合往往需要数分钟到数小时的时间(Davis, 2006)。

通常而言,神经元会保持稳定的发放率,通过神经兴奋性的多方面的内稳态调节,其中包括调节内源性兴奋性即平衡内向外向电压依赖的电导率(Marder and Goaillard, 2006),调整兴奋性和或抑制性突触的权重(Turrigiano and Nelson, 2004)和数量(Kirov et al., 2004)以及高级可塑性(Abraham and Bear, 1996)。在兴奋性突触, Synaptic scaling 已被离体、在体,大脑皮层及海马锥体神经元等多方实验印证(Turrigiano and Nelson, 2004)。兴奋性突触的突触效能可以通过兴奋性突触后微电流 (miniature excitatory postsynaptic currents, mEPSCs, or “minis”) 来检测(Turrigiano et al., 1998)。Scaling 可以在不影响输入信息存储的基础上调整兴奋性突触的发放率。

从整体上而言,稳态可塑性可通过突触后的发放而触发 Synaptic scaling; 当

动作电位及谷氨酸受体同时被阻断时,局部负反馈调节机制可导致谷氨酸受体局部聚集。整体调节的稳态可塑性可不影响输入特异性突触权重,就不会干扰信息存储,局部调节机制,可能会消除 LTP、LTD 效应,类似某种“遗忘”机制。一种可能的调节通路可能以如下的方式进行调节:神经元的发放率下降,胞体钙浓度下降,降低了 CaMKIV 的活性,通过转录调控 AMPAR 聚集增加,提高兴奋性,神经元的发放率增加,胞体钙增加, CaMKIV 的活性回到基线水平。目前还不清楚如何通过胞内信号转导实现神经元发放的精确调节而不影响系统水平的震荡 (Oscillation) 或漂移。调定点的设定可能通过作用相反的因素,共同调节而达到某种平衡(Turrigiano, 2008)。

1.3.3.2 突触可塑性的灵活性

有报道恐惧条件反射或水迷宫训练后 1 周,条件敲除 CA1 的 NR1,训练后 2 周测试时出现逆行性遗忘(Shimizu et al., 2000)。这表明记忆的早期巩固需要再度激活 NMDA 受体。因为 CA1 的 NMDAR 不参与基础突触传递(Malenka, 1991; Derkach et al., 2007), NMDAR 的再度激活就可能被视为是激发了诱导过程,突触效能会因此而发生改变(如 LTP 或 LTD)。基于此,在记忆的巩固阶段可能需要多次轮回的突触修饰(特指在先前的学习过程中发生突触效能改变的突触部位),并以此来强化学习触发的可塑性变化,以使记忆的痕迹更加牢固更加稳定(Shimizu et al., 2000)。

即便是远期记忆保持也需要类似的 NMDAR 的再度激活。有研究表明,在恐惧条件反射训练后 6 个月,在前脑(包括部分皮层,海马及纹状体)进行 NR1 条件敲除(维持一个月),在训练后 9 个月的测试显示,远期恐惧记忆受损(Cui et al., 2004)。由此可见,对在学习过程中触发的突触效能的改变,在记忆的巩固过程中需再度强化已获得的突触修饰,海马依赖的近期记忆及不依赖海马的远期记忆概莫能外。有研究发现, NMDAR 的反复激活,实际上是为了防止突触漂移 (Synaptic drift) 的需要,否则突触效能不能稳定保持,记忆痕迹会渐渐变得不稳定,最终损害长期存储的记忆信息(Wittenberg et al., 2002; Wittenberg and Tsien, 2002)。触发 NMDAR 再度激活的机制可能是回忆 (Recall), 可能性更大的是睡眠,睡眠中可能以一种无序的方式激活记忆痕迹从而引发 NMDAR 再度激活(Maquet, 2001; Siegel, 2001; Stickgold et al., 2001)。

总之,学习后突触效能发生了变化,在记忆的巩固与再巩固过程中,一方面需要保持突触权重的稳定性以便储存学习所得的记忆信息,另一方面保留进一步突触修饰的可能,即突触权重的灵活性以便整合新的信息,表现出学习记忆及与之相应的突触可塑性的动态变化(Abraham and Robins, 2005)。

1.3.4 学习记忆的动态变化

新近获得的记忆通过巩固 (Consolidation) 实现由脆弱易变的不依赖 RNA 和蛋白质合成的短时记忆 (Short-term memory, STM) 向相对稳定的依赖 RNA 和蛋白质合成的长时记忆 (Long-term memory, LTM) 的转变 (McGaugh, 2000)。巩固又包括细胞水平的巩固和系统水平的巩固。前者一般持续 1-3 小时, 后者一般持续数小时、数天、数周甚至更久。以海马依赖的事件记忆为例, 起初海马依赖的事件记忆, 经过海马细胞水平巩固 (Cellular consolidation) 后, 最终储存于其它脑区如大脑皮层, 因而对海马不再敏感, 该事件记忆不再依赖海马 (人类一般需要数年时间, 啮齿类一般为数周时间), 即实现了系统巩固 (Systems consolidation) (Scoville and Milner, 1957; Squire and Alvarez, 1995)。

历史上曾经认为记忆一经巩固便不会回到不稳定的状态, 研究表明经过细胞水平巩固的记忆, 一旦被提取 (Be retrieved) 或再激活 (Be reactivated) 或记忆的回忆 (Recall), 巩固的记忆便又回到不稳定的状态 (Active memory) (Nader et al., 2000), 经过再巩固 (Reconsolidation) 后记忆痕迹得到进一步稳定 (Inactive memory), 随后又有研究证实经过系统水平巩固的记忆, 同样存在再巩固的过程 (Myers and Davis, 2002)。事实上, 从某种程度而言, 记忆的巩固与再巩固可能伴随着整个生命周期而延续着 (Nader and Hardt, 2009)。

1.3.4.1 细胞水平的巩固与再巩固

细胞水平的巩固又称为突触巩固, 往往比较快速, 早期的分子和细胞事件发生在训练之后, 持续数小时到数天, 所涉及脑区为获取新信息相关脑区。细胞巩固需要神经元合成新的 RNA 和蛋白质 (McGaugh, 2000; Kandel, 2001), 通过蛋白质合成把新学习获得的信息转化成稳定的突触修饰。干扰这些过程则可能影响细胞水平的巩固。例如在延迟逃避训练后, 立即海马注射反义寡聚脱氧核苷酸使 CREB 失活, LTM 受损而 STM 则没有影响; 在训练后延迟注射, 则 LTM 相对完整 (Guzowski and McGaugh, 1997)。与学习及细胞水平的记忆巩固相对应的是突触效能的变化, 主要是 LTP, LTD, 因此细胞巩固的生理“单元”可能就是突触。与记忆分为 STM, LTM 类似, LTP 也分为早期 LTP (E-LTP, Early-phase LTP) 及 RNA 和蛋白质合成依赖的晚期 LTP (L-LTP, Late-phase LTP)。

不稳定的记忆在巩固的过程中, 既包括所需存储信息的巩固过程, 也包括去除噪音等无关信息的有效消退过程, 因而出现组合可塑性的特点 (Dudai, 1996)。记忆的形成是动态的过程, 巩固后的记忆可通过提取而再次激活, 呈现出不稳定性, 需要经历再巩固的过程。再巩固不是巩固的简单重复, 是 LTM 形成过程中

重要环节,提取后的稳定过程与巩固过程是截然不同的,尽管功能和潜在的机制上有相似之处。有报道神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)是巩固过程需要的,而再巩固过程不需要 BDNF;而 Zif268 是再巩固过程必须的,与巩固过程无关(Lee et al., 2004)。再巩固是提取依赖的有时限要求的记忆修饰过程,记忆的再激活至少在训练后 24 小时发生,通过条件化线索来提取已巩固的记忆实现再激活,这种无强化效应的再激活往往是再巩固与消退共存、竞争及平衡的过程(Tronson and Taylor, 2007)。再激活并不是在记忆的任何时间段都可以发生,现以听觉恐惧记忆来举例说明:在建立听觉恐惧条件反射后 24 小时,再次暴露条件线索,并在外侧基底杏仁核注入蛋白质合成抑制剂,再次激活后的 STM 没有影响,再次激活后的 LTM 受到损害(Guzowski and McGaugh, 1997; Schafe and LeDoux, 2000),再次激活使得巩固的记忆变的不稳定。然而在建立听觉恐惧条件反射后 6 小时再次激活,则巩固的记忆不受蛋白质合成抑制剂的干扰。因此再次激活是个时间依赖的过程。事实上,巩固与再巩固都有一个不稳定的关键时间窗,对记忆的巩固而言往往是出现在获取信息后的一段时间,而对再巩固而言出现于巩固的记忆再次激活时。与此类似,在 L-LTP 诱导后 2 小时,蛋白质合成抑制剂对 L-LTP 的维持没有任何影响,但是在 LTP 的维持期再度予以刺激, LTP 又对蛋白质合成抑制剂恢复敏感(Fonseca et al., 2006)。也有报道,阻断了恐惧记忆的再巩固逆转了外侧杏仁核的场电位增强(Doyere et al., 2007),因此损害再巩固行为学受损的同时伴有细胞水平的异常。

也有证据表明似乎有一种新的记忆模式,整合了巩固与再巩固。研究证实巩固的记忆需要持续的激活 PKM ζ (Hrabetova and Sacktor, 1996; Pastalkova et al., 2006),在行为学上评估巩固的记忆的稳定性的同时,也需要记忆相关的神经生物学指标的持续存在,否则无需再次激活的过程, LTM 也会受损(Dudai and Eisenberg, 2004; Pastalkova et al., 2006)。因此,巩固与再巩固的内生稳定性的假设可能基于 PKM ζ 介导的状态(Nader and Hardt, 2009)。

1.3.4.2 系统水平的巩固与再巩固

系统巩固一般形成较慢,涉及大脑皮层相关区域与内侧颞叶脑区的相互作用,一般持续数周到数月(Dudai and Eisenberg, 2004),如果需要系统巩固的新信息与已经存储在大脑皮层的记忆有关联,这种系统巩固则较为快速(Tse et al., 2007)。系统巩固往往分为在线状态(如任务相关情形)和离线状态(如睡眠、白日梦等)(Frankland and Bontempi, 2005)。当海马依赖的记忆经过系统巩固而不依赖海马后,是否同样有再巩固的过程?有研究表明,大鼠经过环境恐惧记忆条件反射训练 45 天后,再次暴露于相同的背景环境,各组分别在再次暴露后的 4,

24, 48 小时后损毁海马, 第 7 天的测试显示, 在暴露后 4, 24 小时损毁海马使环境恐惧记忆受损(Debiec et al., 2002)。以往实验结果认为系统巩固往往需要数周时间(Squire and Alvarez, 1995), Debiec 等发现系统再巩固的时间相对较短暂, 并且环境再暴露伴随系统再巩固时, 又表现为海马依赖的环境恐惧记忆。系统水平的再巩固提示了, 有新信息加入已经存在的记忆痕迹(Milekic and Alberini, 2002)。

1.4 海马组合突触可塑性

1.4.1 海马组合突触可塑性假说

海马可塑性主要表现为 LTP 和 LTD, 既往单通路电生理实验中往往以 HFS 或 LFS 分别诱导 LTP(Bliss and Lomo, 1973; Bliss and Collingridge, 1993), LTD(Yuste and Bonhoeffer, 2001)。活动或经验依赖的突触效能变化如: LTP、LTD, 被广泛认可为学习与记忆的细胞与分子基础(Martin et al., 2000)。既往实验表明, 同一事件由于大鼠处于不同状态可分别诱导出 LTP 和 LTD (或 Depotentiation), 例如: 在探索新颖环境时, 可表现为 Depotentiation 的过程, 逆转了 200Hz HFS 诱导的海马 LTP(Xu et al., 1998), 也有报道 100Hz HFS 直接诱导出海马 LTP(Li et al., 2003); 高台应激可易化成年大鼠海马 LTD(Xu et al., 1997), 当处于吗啡戒断状态时高台应激则易化 LTP(Dong et al., 2006)。海马与事件记忆有关, 编码事件发生的时空环境 (Spatiotemporal context) 信息(Eichenbaum, 2004; Manns et al., 2007), 每时每刻大量的时空信息涌入海马, 海马神经元不停地瞬间编码, 形成相应的突触效能变化或形成一定的突触权重, 完成信息获取, 部分信息经历了巩固与再巩固的阶段得以长期存储。对于每一个神经元而言, 它的自身状态可能是各不相同的, 一方面由于可能要编码处理不同的信息, 而且处于信息获取-巩固-再巩固的动态变化之中(Nader and Hardt, 2009), 另一方面负责编码信息的突触可能还受其它因素的影响包括: 既往信息加工后形成的突触效能变化, 可能以高级可塑性 (Metaplasticity) 的方式, 影响目前的信息加工处理(Abraham and Bear, 1996); 邻近的突触效能变化, 可能以稳态可塑性 (Homeostatic plasticity) 的方式, 影响自身突触效能变化(Turrigiano, 2008); 邻近其它类型的突触, 可能以异突触可塑性 (Heterosynaptic plasticity) 的方式, 影响突触效能变化(Bailey et al., 2000) (187) (如 DA 及抑制性突触对兴奋性突触的影响) 等。因此, 我们提出假设海马在参与学习活动, 编码信息形成记忆时, 可能同时会出现 LTP, LTD, 即基于突触的不同自身状态, 同样事件可能触发突触效能呈现双向变化, 亦即以组合可塑性 (Combinatorial plasticity) (Dudai, 1996) 的形式进行信息编码。

1.4.2 海马双通路突触可塑性

在单通路上进行可塑性诱导时,往往只能出现一种突触效能变化:LTP 或 LTD,当然也有报道在没参与诱导活动的邻近异突触上,可能出现双向突触效能变化(Bear and Abraham, 1996; Royer and Pare, 2003)。但是 SPM 理论认为(Martin et al., 2000),诱导相当于学习过程,因此没参与诱导活动的邻近异突触可塑性,可能不能归于与学习记忆直接相关的可塑性。行为学习如经典条件反射或敏感化都是基于两条通路的相互作用(Bailey et al., 2000),因此我们运用海马 Schaffer-CA1 双通路技术,通过双通路条件化作用,观察双通路组合可塑性的变化。1965 年, Kandel 等在海兔上证实了细胞水平的双通路条件化作用,可出现类似行为学 US-CS 配对刺激效应(unconditioned stimulation, US; conditioned stimulation, CS)(Kandel and Tauc, 1965)。既往离体脑片实验曾利用一条具有活性的通路与一条没有活性的通路,配对刺激诱导双通路可塑性(Huang et al., 2004a),也有报道利用 EC-CA1 及 Schaffer-CA1 双通路条件化作用诱导可塑性(Dudman et al., 2007)。我们实验室新近报道了在体海马 Schaffer-CA1 双通路条件化作用,诱导出输入通路时序依赖的突触可塑性(TADP),在不同状态下分别诱导出 LTP/LTP, LTP/LTD 的组合可塑性,通过影响 Theta 节律的药理学干预,实现了 LTP/LTP 与 LTP/LTD 之间的转换,很好的解释了海马突触可塑性的灵活性与稳定性(Dong et al., 2008)。在单通路的可塑性变化往往是双极变化即:LTP, LTD,而双通路组合可塑性理论上应有四种组合即:LTD/LTD, LTP/LTD, LTD/LTP, LTP/LTP。为此我们进一步探索海马 Schaffer-CA1 双通路组合可塑性的发布特点,进而提出海马信息编码的新特点。

2 成瘾与学习记忆

成瘾常表现为一种持续地对成瘾物质的渴求以及持久的强迫性用药行为,对成瘾物质的使用逐渐丧失控制力,目前还没有有效手段来控制其复吸。即便戒断多年,在环境线索等因素的触发下,仍可出现强迫性觅药、用药行为。临床及实验室研究均提出了成瘾与学习记忆假说:成瘾病理性控制了负责奖赏相关学习的神经通路,学习记忆相关的细胞分子机制可能是强迫性用药行为的潜在机制(Hyman et al., 2006)。因而,逆转或阻止成瘾物质诱发的突触修饰,可能对强迫性用药行为的治疗产生深远影响(Kauer and Malenka, 2007)。

2.1 成瘾的特征

物质成瘾最为显著的行为学特征便是强迫性用药行为,全然不顾其它方面的负性后果例如:物质滥用导致身体状况恶化,显著的社会生活角色的失败,甚至

为了取得成瘾物质而参加犯罪活动。成瘾者对成瘾物质的价值取向高于其他一切活动，成瘾者逐渐只对如何获得成瘾物质和使用成瘾物质感兴趣。小部分成瘾者可能会自行终止用药行为，然而大部分处于戒断-复吸的反复循环的慢性进程之中，复吸在成瘾的进程中是绝对的主旋律。

成瘾物质如同食物及性行为一样具有奖赏性(Berridge and Robinson, 2003)，人类及动物能快速学习与成瘾物质相关的线索和环境，一旦学习成功，环境线索本身就能激发觅药行为。条件位置偏好模型表明，动物更愿意呆在接受过成瘾物质处理的地方，证明环境特征与用药体验建立了联系(Bardo and Bevins, 2000)。成瘾物质具有强化效应，除了获取及使用成瘾物质外，行为动机倾向于增加用药体验的频率，强烈的动机会令成瘾者降低对食及性的渴求，排除困难来获取成瘾物质(Kelley and Berridge, 2002)。

反复使用成瘾物质会导致成瘾相应的药源性细胞及神经回路的内稳态性适应(Homeostatic adaptations)，表现为耐受和依赖(Nestler and Aghajanian, 1997)。物质依赖会引起细胞和相应神经回路显著的生理变化，一旦停止使用则引发戒断症状。戒断会引发一些躯体症状，以阿片戒断为例，包括流感样症状和腹部疼痛痉挛，也会出现一些情绪症状如：心境恶劣，以及强烈的渴求成瘾物质的动机。依赖与戒断曾被认为是成瘾的核心症状，如今人们认识到，这些症状对成瘾而言既不是充分条件也不是必要条件。例如在癌症患者使用吗啡镇痛过程中也会出现依赖及戒断症状，但并不出现强迫性觅药与用药行为(Hyman et al., 2006)。可卡因或安非他明成瘾者往往没有明显的躯体戒断症状，同样出现强迫性用药行为及反复的复吸倾向。成瘾者即便停止用药数年，戒断症状已经消退，仍然有较高的复吸风险(McLellan et al., 2000)。物质成瘾的耐受与依赖被认为与蓝斑(locus coeruleus, LC)的环一磷酸腺苷(Cyclic adenosine monophosphate, cAMP)通路上调有关(Nestler and Aghajanian, 1997)。以阿片耐受与依赖为例：急性阿片类物质使用降低LC神经元的发放率，持续使用阿片类物质发放率恢复正常水平，使用阿片受体拮抗剂后可比正常水平高出数倍。生化实验证实，阿片类物质抑制LC腺苷酸环化酶，抑制cAMP依赖的蛋白质磷酸化，这种抑制随着阿片类物质的慢性使用而得以恢复(耐受)，使用阿片受体拮抗剂后上述抑制过程逆转为高于正常水平(依赖与戒断)。

大量的临床及实验室观察认为，成瘾物质的强迫性用药行为与cAMP相关的依赖与戒断过程(自适应过程)可能没有直接关联，而与中脑边缘系统多巴胺-谷氨酸回路介导的长时程联合性记忆有紧密联系(O'Brien et al., 1998; Berke and Hyman, 2000; Robbins and Everitt, 2002; Everitt and Robbins, 2005; Hyman et al.,

2006)。联合型学习受到关注得益于发现成瘾物质关联的线索暴露,引发成瘾物质的使用及复吸(Wikler and Pescor, 1967; Tiffany, 1990; O'Brien et al., 1998)。成瘾物质关联的线索包括外在的感官刺激(如:相关的人,使用的器具,成瘾物质使用时的环境等),内感受性刺激(如:成瘾物质使用时的体验,包含戒断体验)等。因此成瘾的主要特征为持久的强迫性觅药、用药行为及持久的复吸倾向,这些特征的形成及发展与联合型学习有密切关联。

2.2 成瘾与学习记忆的关系

2.2.1 成瘾行为与学习记忆的关系

成瘾物质具有多维强化效应。首先,成瘾物质可作为“操作强化刺激”(Instrumental reinforcer),为了增加强化效应的可能性,导致自身给药(Self-administration)行为或用药(Drug taking)行为。其次,环境刺激通过巴甫洛夫条件反射,在时间空间上与自身给药时获得的动机凸显效应,形成密切联系。再者,成瘾物质会产生主观的个体体验,包括自我感觉及歪曲的感知体验。上述效应的任意组合便构成了成瘾物质的奖赏效应(Everitt and Robbins, 2005)。不可预知的成瘾物质配对条件刺激(CS)可引起伏隔核(nucleus accumbens, Nac)的核心区(Core)DA释放,而不是Nac的壳区(Shell)(Nestler and Aghajanian, 1997)。与此结果相一致,选择性损毁Nac的Core区域(Parkinson et al., 1999)或训练时把NMDAR或DA受体的拮抗剂注入Nac的Core区域(Di Ciano et al., 2001),阻止了巴甫洛夫条件反射的建立,训练后把NMDAR或DA受体的拮抗剂注入Nac的Core区域则干扰了记忆的巩固(Dalley et al., 2005)。选择性损毁Nac的Core区域也阻止了巴甫洛夫条件反射转换操作反射的建立(Hall et al., 2001)。研究证实,Nac的Core通过边缘叶输入信号,介导条件化强化刺激物的效应;Nac的Shell介导成瘾物质的精神运动效应(Parkinson et al., 1999),从行为上激活巴甫洛夫效应,影响条件化强化刺激的动机凸显。神经影像证据表明,在人类腹侧纹状体与巴甫洛夫条件反射有关,而背侧纹状体与操作条件反射有关(O'Doherty et al., 2004)。

海马是Nac的重要的谷氨酸能输入,尤其是Nac的Shell区域(Groenewegen et al., 1996),往往与环境刺激或事件的空间背景有关,是成瘾物质关联的环境刺激激发觅药行为的基础。研究表明通过VTA的谷氨酸能作用,Theta-burst刺激海马能再次强化已经熄灭的可卡因觅药行为(Vorel et al., 2001),损毁腹侧海马下托削弱了成瘾物质的运动反应(Burns et al., 1993; Caine et al., 2001)。

2.2.2 成瘾与学习记忆共同的神经回路及细胞分子基础

成瘾物质的奖赏效应及奖赏相关的学习与古老的动机系统有密切联系,动机系统经过数百万年的进化,来指引适应与生存。即便是地球上的早期生物如细菌也存在趋利避凶的动机,激励它们趋向糖水远离毒素(Adler, 1966; Qi and Adler, 1989)。动机系统参与了对环境刺激及其相应的情绪状态(正性或负性情绪)的感知,情绪状态虽然短暂,但对行为有强大的驱动力和或被视为行为的持久的发动机。正性情绪通常会激励生物体再去接触可能产生该情绪的事件,从而出现相应的行为。大脑系统监视着各种体内体外的信号,及其激发的情绪反应,以及伴随着的动机状态及其引发的可塑性,大量的分子信号相应产生(如单胺, G 蛋白偶联受体, 蛋白激酶, CREB),并随着进化而被保存下来。与动机系统相对应的神经解剖结构基础也得到了广泛的研究,非常精细而又相互作用的下丘脑核团及其在脑干系统的延伸,构成了对生存必须的特定行为的精细调控,被冠名为“行为控制柱”(Behavioral control columns)(Kelley, 2004)。动机作为控制行为的潜在因素而存在,相应的情绪状态能读出特定的动机系统,生物体会做出本能的反应。有了这个前提,就能较好的理解成瘾。成瘾物质仅仅依靠短暂的情绪效应,然而却形成了持久持续的神经适应性变化,对动机系统产生了深远的影响。

对情绪动机系统及行为控制而言,除下丘脑-脑干系统以外,来自海马、杏仁核、前额叶、纹状体及苍白球等区域的输入也很重要。海马是联合型学习记忆的关键脑区,编码巩固新颖环境信息,参与环境刺激关联的信息学习(Morris et al., 2003)。杏仁核参与了奖赏评估和奖赏关联的学习(Schoenbaum et al., 2000; Cardinal et al., 2002),特别是基底外侧核的部分与外侧下丘脑相关联,杏仁核失活会阻断纹状体-下丘脑回路介导的摄食行为的表达(Will et al., 2004)。前额叶介导执行功能、工作记忆及反应导向等,是动机系统重要组成部分,与其它皮层脑区有大量的往返纤维联系(Floyd et al., 2001)。除下丘脑-脑干系统以外,海马、杏仁核及前额叶发出大量的谷氨酸能纤维投射到纹状体,丘脑也有大量的谷氨酸能纤维投射到海马、杏仁核、前额叶及纹状体等。激活谷氨酸受体介导的突触修饰是长时程可塑性的经典模式(Derkach et al., 2007),因而学习记忆在动机-情绪-行为复杂的系统中发挥作用也就不不足为怪了。

在上述神经回路中另外一个关键的内在可塑性是 DA,多巴胺能神经元位于中脑的 VTA 和黑质(Substantia nigra, SN),通过内侧前脑束,广泛投射到纹状体、前额叶、杏仁核及海马。DA 主要有两大 G 蛋白偶联的 DA 受体家族,即 D1 家族(D1 和 D5 多巴胺受体)和 D2 家族(D2/3 和 D4 多巴胺受体)。其它单胺类如 5-羟色胺及去甲肾上腺素在前脑区域的投射也是明确的,同样在突触可塑

性方面也发挥着重要作用,考虑到成瘾动机理论主要以 DA 为基础,所以这里着重讨论 DA 系统与谷氨酸 (Glutamate, Glu) 系统的关系。事实上, DA 能和谷氨酸能纤维末梢可紧邻出现在同一个树突棘上,这也就为两者的相互作用提供了关键的结构基础(Totterdell and Smith, 1989; Sesack and Pickel, 1990)。可塑性相关的基因及其表达物如: 蛋白激酶、CREB、即刻早期基因及突触后致密蛋白等在海马、杏仁核、前额叶及纹状体回路中大量存在。

D1 受体激活后, K^+ 电流增加至接近静息电位水平,抑制兴奋性(Pacheco-Cano et al., 1996),但是当在接近去极化状态时, D1 受体激活可导致 $L-Ca^{2+}$ 电流增加而表现出增强兴奋性(Hernandez-Lopez et al., 1997)。大量研究证实, D1 受体激活能提高 NMDA 激发的兴奋性(Cepeda et al., 1993; Harvey and Lacey, 1997; Cepeda et al., 1998; Wang and O'Donnell, 2001)。有报道海马-前额叶突触的 LTP, 依赖于 D1 及 NMDAR 的共同激活(Jay et al., 1995; Jay et al., 1998; Gurden et al., 1999; Gurden et al., 2000)。事实上, 海马在与腹侧纹状体的突触整合上起关键作用, 它似乎在维持腹侧纹状体的上调状态 (Up state) 及其相应的神经元发放率方面起了根本性的作用。Goto 和 O'Donnell 报道了腹侧海马与腹侧纹状体之间有同步活动(Goto and O'Donnell, 2001), 分析了前额叶与边缘叶突触输入整合的时序结构(Goto and O'Donnell, 2002)。DA 通过 D1R, D2R 调整 cAMP 的表达, 激活了多种激酶通路, 包括 PKA、PKC、CaMK 和 ERK/MAP/RSK 等, 通过控制 Ca^{2+} 电流, 调节关键的转录元件 CREB, 最终导致基因表达和蛋白质合成, 形成突触修饰, 因此 CREB 是 NMDA 与 DA 信号转导的共同通路(Silva et al., 1998)。此外 DA 和 cAMP 调节的磷蛋白 (dopamine and cyclic AMP regulated phospho-protein, DARPP) 及 PP1 在胞内信号磷酸化调节方面有重要作用(Greengard et al., 1998)。在边缘叶-纹状体有大量的即刻早期基因, 如 c-fos, c-jun, NGFI-B, homer1A, ania3, arc, and zif268 等, 这些早期基因的诱导很多是 NMDAR 与 D1R 依赖的(Wang et al., 1994; Konradi et al., 1996; Das et al., 1997; Liste et al., 1997; Steiner and Kitai, 2000; Steward and Worley, 2001b)。Arc 是一种早期基因, 它的 mRNA 选择性定向于最近激活的突触区域, 并被翻译整合如突触后致密区(Steward and Worley, 2001a), Arc 的激活及定向整合可被 NMDAR 的拮抗剂所阻断(Steward and Worley, 2001b)。有研究报道了 D1 受体通过其碳尾与 NR1 与 NR2A 的相互作用调节 NMDAR 的功能(Lee et al., 2002; Pei et al., 2004)。在纹状体的培养细胞, NMDAR 的激活可引起 D1R 的再分布, 从胞内移向树突棘膜, 从而提升了 AC 的活性(Scott et al., 2002)。在培养的 Nac 细胞上刺激 D1R, 增加了依赖于 PKA(Greengard et al., 1998)的 AMPAR (GluR1)的表达(Chao et al., 2002)。

Glu-DA 的相互作用同样在行为的学习上得到验证, 如巴甫洛夫条件反射相

关的线索、刺激及其发生的环境,都可与奖赏发生联系,对操作条件反射产生强烈影响(Rescorla, 1994; Cardinal et al., 2002)。在 Nac 核心区以及前额叶,可能包括其它脑区, NMDAR 和 D1R 的共同激活对于学习是必须的(Smith-Roe and Kelley, 2000; Baldwin et al., 2002)。在 Nac 阻断 NMDAR,则阻断了条件线索的行为反应(Di Ciano et al., 2001),而损毁或耗竭 DA 同样阻断了学习(Parkinson et al., 1999; Parkinson et al., 2002)。新近研究证实,长时间的可卡因戒断可引起 Nac 区域 GluR2-lacking AMPAR 增加, Nac 局部注射 GluR2-lacking AMPAR 阻断剂则阻断了线索激发的自身给药动物的复吸行为。因此,增加的 GluR2-lacking AMPAR 可能介导了可卡因渴求及复吸行为(Conrad et al., 2008)。曾有报道,刺激 Nac 的 D1/D5 受体,可激发可卡因复吸行为(Anderson et al., 2003; Bachtell et al., 2005; Schmidt et al., 2006),而激活 Nac 的 AMPAR 同样可以导致可卡因复吸(Kalivas et al., 2005; Schmidt et al., 2005)。有证据表明,可卡因复吸与 D1 受体激活相关联,而且伴随着 Nac 的壳区 CaMKII Thr286 磷酸化增加以及 GluR1 Ser831 的磷酸化增加(也是 CaMKII 磷酸化位点),同时伴有 Nac 的壳区的 GluR1 表达增加,此外 Intra-Shell 注射抑制 GluR1 AMPAR 转运的病毒载体(AAV10-GluR1-C99)则抑制了可卡因复吸行为(Anderson et al., 2008)。因此 CaMKII 可能是多巴胺系统与谷氨酸系统的共同信号通路,而奖赏机制与学习机制共同孕育了介导成瘾物质渴求与复吸的神经可塑性变化。

2.2.3 成瘾记忆的再巩固与成瘾行为

记忆的再巩固理论提示,巩固的记忆再次提取(再激活),就会变得不稳定,并对转录和蛋白质合成的抑制变得再度敏感,这也为复吸干预提供了新的机遇。造成复吸干预困难的重要原因由于持久存在的条件化环境线索(Hyman et al., 2006)。环境线索往往与渴求行为伴随的主观愉悦体验以联合型方式学习并形成相应的成瘾记忆。神经递质多巴胺作为奖赏相关的信号,在成瘾记忆的形成与巩固方面起了重要的调节作用。所有的成瘾物质都直接或间接涉及多巴胺系统,并在大脑的情绪及认知等回路形成神经可塑性的变化。功能影像技术首次提供了,可以从系统层面来观察成瘾物质对大脑影响。成瘾者在看到使用成瘾物质时的器具或准备注射成瘾物质的场面时,大脑中负责记忆、动机、行为控制的脑区活性发生了显著的变化(Grant et al., 1996; Childress et al., 1999)。中脑-边缘系统有着广泛的 DA 通路联系,在成瘾记忆的获取及巩固发挥了重要作用,然而以前巩固的成瘾记忆,通过再次提取,有可能暂时重回到不稳定的状态(Milekic and Alberini, 2002; Nader, 2003; Dudai and Eisenberg, 2004; Lattal and Abel, 2004)。记忆的再巩固保留了记忆的更新重组的能力,需要新一轮的基因转录及蛋白质合成,以使记忆达到新的巩固与稳定。因此,再巩固提供了第二次机遇来消除条件刺激与用药

体验之间的联系,从而使环境线索失去对觅药行为的推动作用。

ERK 是成瘾物质与记忆巩固之间的功能链接之一,成瘾物质能激活 Nac 的 ERK,而 ERK 通过激活下游的转录因子(如 Elk-1, CREB 等)参与了记忆巩固。曾有报道 ERK 及 MAPK 被抑制后, CPP 不能形成(Valjent et al., 2000)。Miller 和 Marshall 首次采用免疫印迹(Western blot)和免疫组织化学的方法证实,实验动物形成 CPP 后, Nac 核区的 ERK, CREB 和 Elk-1 的表达增多,而予以 MAPK 的阻断剂 U1026 后,上述现象消失。因此激活 ERK 信号通路对于 CPP 记忆的提取是必须的。提取后在 Nac 的核区局部注射 U1026,在第二天测试时 CPP 不能形成,未提取组 Nac 核区注射 U1026,不影响 CPP 的形成(Miller and Marshall, 2005)。实验结果显示了干扰环境线索-用药体验的关联记忆的再巩固,环境线索则无法提取相应的记忆信息, CPP 最终无法形成。说明了干扰成瘾记忆的再巩固,有效阻止了相应的成瘾行为。

有报道在可卡因自身给药模型中,予以条件化线索刺激(再激活, Reactivation)前,杏仁核基底外侧核(Basolateral amygdala, BLA)注射 Zif268 反义寡核苷酸后,干扰了记忆再巩固,条件化线索无法提取相应的成瘾记忆信息(Lee et al., 2005)。也有报道在提取后(Re-exposure)予以应激或糖皮质受体激动剂 RU28362,即干扰了记忆再巩固, CPP 不能形成; BLA 局部注射糖皮质受体拮抗剂 RU38486,则消除了应激对记忆再巩固的干扰(Wang et al., 2008)。

2.3 成瘾与敏感化

有些物质成瘾相关的行为反应表现为耐受,有的则出现敏感化(Sensitization),例如实验大鼠每天注射一定量的成瘾物质如:可卡因、苯丙胺或阿片类药物等,大鼠的自发活动逐渐增强,即运动敏感化。敏感化可长期存在,有报道在停止苯丙胺使用后一年,仍可观察到运动敏感化现象(Paulson et al., 1991)。鉴于敏感化的持久性及与环境相关性,敏感化被认为是成瘾潜在的神经机制(Robinson and Berridge, 1993, 2003; Vezina, 2004)。基于此现象, Robinson & Berridge 提出了动机敏感化成瘾理论:如果反复使用成瘾物质可导致运动敏感化,那它也会使分配成瘾物质及其线索动机凸显的神经回路敏感化。成瘾物质相关线索使得动机凸显(Incentive salience),因而表现出强烈的对成瘾物质的渴求(Robinson and Berridge, 1993, 2003)。动机敏感化理论与联合性学习机制有相一致之处,把成瘾物质相关线索与成瘾物质渴求与觅药行为相联系起来。动机敏感化理论与强化理论也有相一致之处(后者将 DA 作为奖赏的预测-错误信号(Prediction-error signal),两者都认为奖赏体验能提高成瘾物质相关线索的动机凸显(Montague et al., 2004)。敏感化的概念不能阐明成瘾物质相关线索的信息编

码过程,也不能阐明成瘾物质相关线索激活觅药行为的全过程。在一定程度上,敏感化能增强成瘾物质或相关线索激发的 DA 释放,有利于巩固成瘾物质与相关线索的联系。

大量证据表明 VTA 与触发行为敏感化有关,阻断 VTA 的 NMDAR 受体,阻止了敏感化的形成,而 Nac 在行为敏感化的表达方面起着重要作用(Kauer and Malenka, 2007)。有报道 GluR1 在 VTA 的过度表达,诱导了行为敏感化,提示了 VTA 的 LTP 样变化可充分诱导出行为敏感化(Carlezon et al., 1997),也提示了增加钙通透 AMPAR 的数量,可能在发展行为敏感化方面起了重要作用(Carlezon and Nestler, 2002)。但是 GluR1 敲除不影响可卡因诱导的行为敏感化(Dong et al., 2004)。有研究证实,阻断 Nac 的 LTD 后,苯丙胺的运动敏感化的表达受损,对运动敏感化的形成没有影响(Brebner et al., 2005)。突触修饰在行为敏感化模型中的作用提示, NMDAR 依赖的突触可塑性引发的神经适应性改变,可能是导致物质成瘾的机制之一(Tong et al., 1995; Wolf, 1998)。

2.4 成瘾与海马相关的学习与记忆

成瘾物质具有奖赏效应,当在某特定环境反复使用成瘾物质,环境特征与奖赏效应之间会产生联合型学习,该环境特征可能会成为激发觅药行为或渴求药物的环境线索,具有次级强化效应(Everitt and Robbins, 2005)。条件位置偏爱(Conditioned place preference, CPP)模型,便很好的说明了环境特征相关的学习与记忆参与了成瘾的发生与发展(Tzschentke, 1998)。在自身给药动物实验中,环境线索能使已经熄灭的自身给药行为再度得以强化(即复吸)(Crombag and Shaham, 2002)。因而,环境线索可能是引发物质成瘾复吸的重要因素(Tzschentke and Schmidt, 2003; Crombag et al., 2008)。

海马在事件记忆中起了关键作用,负责编码、巩固事件发生的环境及时序信息(Eichenbaum et al., 2007; Manns et al., 2007)。海马可塑性如 NMDA 依赖的 LTP, LTD,被认为是海马相关学习与记忆的细胞与分子基础(Martin et al., 2000)。因此,海马参与了环境特征与奖赏效应之间的联合型学习,海马局部注射 NMDAR 拮抗剂, CPP 则不能形成(Carlezon et al., 1997)。有自身给药实验证实,自身给药环境能激发实验动物的复吸行为(Crombag and Shaham, 2002),而药理损毁海马自身给药环境则不能激发实验动物的复吸行为(Fuchs et al., 2005),海马参与成瘾相关的学习与记忆的具体机制,目前尚未明了。成瘾物质一般都会引起 VTA 的 DA 释放增加(Hyman et al., 2006),DA 能纤维可投射到 Nac、前额叶、杏仁核以及海马等,而 Nac 也接受来自海马的 Glu 能纤维投射(Berke and Hyman, 2000),因此海马的 Glu 能系统与中脑-纹状体 DA 系统存在信号沟通的结构基础。DA 能纤维

沿着 Schaffer collateral 分布, 并能与 CA1 的 Glu 能锥体神经元形成异突触联系 (Bailey et al., 2000)。在 Schaffer collateral 通路, D1/D5 多巴胺受体激动剂能诱导出 L-LTP, 抑制 D1/D5 多巴胺受体, 阻断 L-LTP 的形成 (Huang and Kandel, 1995), 因此 DA 在海马的异突触调节, 有助于长时程记忆的形成。也有离体海马电生理报道, 不同多巴胺浓度, 分别低浓度 DA 诱导出 LTD, 高浓度 DA 诱导出 LTP (Sajikumar and Frey, 2004)。

既往动物实验表明, 反复皮下注射阿片类药物, 则损害海马 LTP, 并使空间记忆受损, 戒断后受损的 LTP 逐渐恢复 (Pu et al., 2002)。也有实验证实, 反复皮下注射吗啡海马 LTP 受损, 戒断四天却易化了 LTP (Dong et al., 2006)。有报道反复的可卡因给药, 可易化海马 LTP (Thompson et al., 2002; Thompson et al., 2004)。上述海马电生理实验都是基于单通路输入, HFS 诱导 LTP, 一方面 HFS 的诱导方式不符合生理特点, 通常以强直高频刺激的方式激发 LTP。另一方面行为学习一般以双通路刺激的相互作用为基础 (Bailey et al., 2000)。因此, 我们运用双通路技术, 研究反复吗啡给药后, 海马 Schaffer-CA1 双通路组合可塑性的变化。双通路条件化作用通过低频配对诱导, 可同时诱导 LTP, LTD, 因而海马 Schaffer-CA1 双通路组合可塑性的变化可能更好的编码物质成瘾事件记忆中的时空背景信息。

2.5 戒断与成瘾记忆

一般情况下, 起初使用成瘾物质时可能多为愉快体验, 随着成瘾物质的反复使用, 内稳态神经适应 (Homeostatic neuroadaptations) 将引起对成瘾物质的耐受及依赖, 因而一旦停药就会出现戒断症状 (包括躯体症状以及负性情绪体验), 曾有观点认为强迫性用药是基于逃避不愉快的戒断体验。这种快感双向假设 (Two-sided hedonic hypothesis) 曾有多种命名: 愉快-痛苦 (Pleasure-pain)、正性-负性强化 (Positive-negative reinforcement)、相反过程 (Opponent processes)、快感内稳态 (Hedonic homeostasis)、快感失调 (Hedonic dysregulation)、奖赏变构 (Reward allostasis) 等 (Wikler, 1948; Solomon and Corbit, 1974; Koob and LeMoal, 1997, 2001)。持相反过程动机理论者提出, 物质成瘾包含有冲动性及强迫性 (Koob and LeMoal, 2008), 包括有三个阶段: 先占/预期 (Preoccupation/anticipation)、过量使用/沉醉 (Binge/intoxication)、戒断/负性情绪 (Withdrawal/negative affect), 三个阶段相互作用导致病理性状态即成瘾 (Koob and LeMoal, 1997)。当成瘾物质的使用由冲动性转化为强迫性, 成瘾行为的动机驱动便由正性强化转为负性强化。相反动机理论认为物质成瘾有两种动机过程: a-过程 (a-process) 是快感情绪体验, 由于适应过程 (或耐受), 会激发 b-过程 (b-process) 戒断情绪体验。在物质成瘾的初期往往 a-过程占优势, 随着成瘾物质的反复使用 b-过程逐渐占主

导地位(Solomon and Corbit, 1974)。基于此,成瘾被认为是由于大脑奖赏与抗奖赏机制的失调所导致的基于负性强化的强迫性用药行为(Koob and LeMoal, 2008)。相反动机理论认为成瘾会涉及系统内及系统间的神经适应(Koob and Bloom, 1988)。所有的成瘾物质在使用初期,都会降低颅内电刺激奖赏的阈值(Kornetsky and Esposito, 1979),大多数成瘾物质在急性戒断时都会提高颅内电刺激奖赏的阈值(Paterson et al., 2000),这种奖赏阈值的提高反映了与正性强化有关联的中脑及前脑奖赏相关神经递质系统的活性降低,这便反映了系统内神经适应过程。有研究证实戒断时,中脑边缘叶的 DA 系统活性降低并降低了 Nac 的 5-羟色胺水平(Weiss et al., 1992, 1996),此外戒断数周后,仍会出现转录因子 Δ fosB 持续升高(Nestler, 2008)。成瘾物质的慢性使用会导致下丘脑-垂体-肾上腺轴以及其它大脑应激系统的失调,在急性戒断会导致促肾上腺皮质激素、皮质酮水平及杏仁核促肾上腺皮质激素释放因子(Corticotropin-releasing factor, CRF)水平升高(Rivier et al., 1984; Koob et al., 1994; Merlo-Pich et al., 1995; Rasmussen et al., 2000; Olive et al., 2002)。CRF 拮抗剂能改善成瘾物质急性戒断导致的焦虑样状态,能阻断对成瘾物质的依赖,而去甲肾上腺素(Noradrenaline, NA)拮抗剂也有类似的作用(Koob and LeMoal, 2008),而杏仁核局部注射或病毒转染神经肽 Y (Neuropeptide Y, NPY)能减少酒依赖者的酒摄入量(Thorsell et al., 2007)。成瘾物质的急性戒断升高了杏仁核的 CRF 水平,并与急性戒断的焦虑样效应及成瘾物质的摄入增加有关联,同时可能引起了 NA 及强啡肽水平的增加以及 NPY 水平的降低。大脑应激系统激活(CRF, NA, 强啡肽)以及抗应激系统的失活(NPY),体现了成瘾过程的系统间神经适应所伴随的情绪失调,对成瘾过程中的依赖及戒断的情绪变化可能有着重要作用。戒断时的负性情绪状态包含有关键的动机激励成分(负性强化)如:易激惹、情绪性疼痛、病理性心境恶劣,并伴随着成瘾物质的奖赏阈值增加。成瘾相关的系统内适应,导致奖赏系统的功能下降甚至丧失,以及系统间适应所涉及的应激系统或抗奖赏系统,都为负性强化导致的强迫性觅药行为提供了强大的支持(Koob and LeMoal, 2008)。

海马 LTP 被认为与海马相关的学习与记忆紧密关联,是海马编码与巩固信息的细胞与分子基础。既往实验结果表明,阿片成瘾后的戒断期会出现 LTP(Dong et al., 2006),这提示我们在成瘾后有一关键时间窗,编码与巩固了海马相关的成瘾记忆。Robbins 等认为阿片戒断作为一种激励状态(Motivational state)能提升对成瘾物质的动机评价(Incentive value),从而使成瘾物质具有更有效的奖赏效应,并提出了动机-激励假说(Incentive-motivational hypothesis)(Hutcheson et al., 2001)。实验也证实,当海洛因依赖大鼠再次戒断时,前期经历过海洛因戒断体验的大鼠表现出更强的觅药行为,因而只有在戒断相应的激励状态下,才能实现

动机学习。正是由于动机学习的观点,使得动机-激励的假说不同与负性强化(Wikler, 1973)或相反过程理论(Opponent process theory)(Solomon, 1980; Koob et al., 1989)。动机-激励的假说不仅承认了戒断的重要性(Stewart et al., 1984),更强调戒断在促成动机学习,并因此而增强了强迫性觅药行为。实验证实戒断相关的环境线索,使得边缘叶回路的 c-fos 的表达增加,如 Nac、VTA、杏仁核及海马等,为戒断提升动机评价及觅药动机(Hutcheson et al., 2001; Freno et al., 2005)提供了可能的机制。

戒断对成瘾行为的维持以及复吸的作用,一直存在争议(Wikler, 1948)。负性强化的观点认为,动物自身给药行为是基于减缓戒断体验的不适感(Solomon and Corbit, 1974; Koob and LeMoal, 1997, 2001)。Wikler (1948) 提出了阿片成瘾两个过程的假设:(1) 环境刺激能与阿片戒断状态可以形成经典条件反射;(2) 操作条件反射的给药行为是基于缓解戒断体验或是条件化戒断状态。Wikler and Pescor (1967)证实了经历过戒断的实验动物,当再次暴露与戒断关联的环境时,能激发条件化戒断状态,基于条件化戒断状态的负性体验,他们预测条件化戒断状态能提高觅药动机(负性强化),但当时的实验一直难以证实该预测。Shaham, Rajabi, & Stewart (1996) 证实海洛因自发戒断反应能增强实验动物的觅药行为,而纳洛酮激发的戒断反应没有该现象。也有观点认为成瘾物质依赖时的正性强化效应或奖赏效应促成了戒断时期的负性体验,认为习得性戒断相关线索能激发戒断反应,并引发对成瘾物质的渴求、觅药、复吸,最终激发强迫性用药行为(Schulteis et al., 2000)。Hellemans, Dickinson & Everitt (2006) 证实纳洛酮激发的戒断相关联的条件化刺激抑制了海洛因觅药行为,但是当该条件化刺激曾与海洛因用药行为有联系时,则能增加觅药行为。Catherine Le Moine 等认为存在戒断记忆,环境特征与用药体验或戒断体验均能形成联合型学习并获得相应的记忆(Wikler, 1973; Childress et al., 1993),戒断相关线索能提取戒断记忆,从而产生激励状态,促成觅药、用药行为(Ahmed et al., 2000)。因此戒断与奖赏分别通过相应的学习,形成戒断或奖赏相关的成瘾记忆,而不同的条件化环境线索可分别提取戒断或奖赏相关的成瘾记忆,产生条件化戒断状态或奖赏效应,因而激发对成瘾物质的渴求、觅药行为,并可能导致复吸。

二、实验内容

(一) 大鼠海马 Schaffer-CA1 组合突触可塑性分布

1. 实验目的

动物实验及人类研究均证实海马与事件记忆有关(Eichenbaum et al., 2007), 海马突触可塑性被认为是海马相关学习与记忆的细胞与分子基础(Martin et al., 2000)。既往经典的诱导海马可塑性的方案大多基于一个刺激输入, 如高频刺激诱导 LTP(Bliss and Gardner-Medwin, 1973; Bliss and Lomo, 1973), 低频刺激诱导 LTD(Dudek and Bear, 1992; Mulkey and Malenka, 1992), 因此一次诱导只能产生一种方向的突触效能变化, 即 LTP 或 LTD。大多数实验通过影响 LTP 诱导和或维持(如: E-LTP 和或 L-LTP), 同时伴有学习和或记忆受损来说明 LTP 是重要的学习与记忆细胞分子“标记”(Martin et al., 2000; Citri and Malenka, 2008; Neves et al., 2008)。

事实上, 同一事件在不同的生理状态下, 可出现不同的突触修饰, 因而表现出不同的突触效能变化。有报道大鼠在探索新颖环境时, 可以逆转高频强直刺激诱导的海马 LTP, 即 Depotentiation, 也就是证明了探索新颖环境的过程抑制了海马的突触效能, 如果以强直刺激时的 fEPSP 为基线, 探索新颖环境也就诱导了 LTD(Xu et al., 1998); 也有报道大鼠在探索新颖环境时, 易化了 LTP(Li et al., 2003)。两者实验过程最大的不同是大鼠在探索新颖环境时的突触效能状态是不一样的, 前者经过了 200Hz 的强直刺激, 增强的突触效能可能接近了生理极限, 而后者探索新颖环境前没做高频强直刺激预处理。又比如正常成年大鼠高台应激后易化 LTD(Xu et al., 1997); 然而当大鼠处于吗啡戒断的某个时间窗, 却易化了 LTP(Dong et al., 2006)。这些现象提示我们, 在获取信息的学习过程中, 在不同的生理状态的突触中, 可能同时分别出现 LTP 和 LTD, 而且不同的学习可能呈现出不同的 LTP/LTD 组合, 即组合可塑性的变化(Xu et al., 1998)。

单通路实验在该通路上, 每次只能一种可塑性方向变化, 较难直接说明突触可塑性的组合性变化。近来有报道在体海马存在输入时序依赖的可塑性(TADP), 低频配对刺激在 40ms 时序时间窗内(经过 EPSP peak-latency 矫正), 在同侧 Schaffer/对侧 Commissural 及 Schaffer-CA1 同侧双通路上均可诱导出 LTP/LTP 的组合可塑性, 并随着 Theta 节律的变化, 海马可塑性可实现 LTP/LTP 与 LTP/LTD 间的自由转换(Dong et al., 2008)。当研究对象是单通路时, 突触效能的变化只有两种可能及增强(LTP)或抑制(LTD)。按常理推论, 当研究对象是双通路时,

突触效能的变化可能有四种组合即：LTD/LTD、LTP/LTP、LTP/LTD 和 LTD/LTP。

于是，我们第一部分实验主要探索 Schaffer-CA1 双通路组合可塑性的分布，如能证实确实存在四种组合可塑性分布，也就为我们提出的信息编码新假设提供了现实可能性。我们会以四种分布的实验结果为基础，提出假设：海马获取信息时，LTP、LTD 可能共同存在，共同编码获得的信息。

此外，我们还通过计算两条通路之间的独立性或重叠度的不同（相互交叉重叠的程度，Overlapping index），来观察不同的 Overlapping index 对双通路组合可塑性是否有影响。另外，一般认为相互隔离的突触输入整合趋近线性，而不完全隔离的突触输入的整合为非线性，脑片实验结果显示，当刺激电极都位于 CA1 区锥体细胞的近、远端树突，或一个电极位于近端，另一个电极位于远端树突时，两个相互隔离的 EPSP 的输入整合都呈亚线性(Cash and Yuste, 1998; Wang et al., 2003)。在体海马 CA1 近端树突间的整合效应未见报道，为此我们观察了在体海马 Schaffer-CA1 双通路近端树突间的整合效应。

2. 材料与方法

实验动物

实验动物采用的是雄性 SD 大鼠（同系繁殖，昆明医学院，动物中心），体重 200-300g，动物分组饲养于中国科学院昆明动物研究所学习与记忆实验室，予以自由饮水和进食，每天控制 12 小时室内照明，以保持大鼠正常的昼夜节律，环境温度控制在 22-24℃。动物饲养及实验方案均获得中国科学院昆明动物研究所批准。

实验仪器及软件

- 1) 手持微型电钻（T60DR, SAE SHIN PRECISION CO., KOREA）
- 2) 大鼠脑立体定位仪（STOELTING, USA）
- 3) 电生理刺激器（PSIU6G, GRASS INSTRUMENT CO., W. WARWICK, USA）
- 4) 放大器（Powerlab/4sp, ADInstruments Pty Ltd, Castle Hill, Australia, 和 ETH-255 Bridge/Bio Amplifier, CB Sciences Inc. Dover NH.）
- 5) 刺激输出及 fEPSP 数据采集电脑软件（Scope V3.6.3/s）
- 6) 刺激输出及数据采集电脑（Macintosh G4）

电生理实验前的局部手术

首先对大鼠实施腹腔注射麻醉（戊巴比妥钠，50-60 mg/kg），无法引出睫反射后，用剪刀去除大鼠头部毛发。皮下注射普鲁卡因实施大鼠头皮局部麻醉，用手术刀纵向切开头皮，暴露并清洁颅骨表面。随后将动物移至立体定位仪并固定动物头部，低流量持续鼻导管供氧（含 95% O₂ 和 5% CO₂）。以大鼠脑立体定位图谱海马坐标为参考，标记刺激电极、记录电极和参考电极在颅骨表面的位置，以微型电钻在标记点钻出四个直径约 1.5 mm 的电极插入孔，深度达软脑膜表面。首先将一个直径 1.5 mm 的不锈钢螺钉作为参考地线置入颅腔（前囟前 7 mm，中缝左旁 1 mm），深度以触及软脑膜为准，避免过分压迫脑组织。记录电极和刺激电极是两股拧在一起的 Teflon 绝缘的铂铱合金丝电极（90%铂和 10%铱，内径 50 μ m，外径 75 μ m）（World Precision Instruments, Sarasota, FL）。记录电极位置大约位于前囟后 3.5—4.0 mm，中缝旁 2.5—3.0 mm；刺激电极 1 位于前囟后 4.2—4.8 mm，中缝右旁 3.5—3.8 mm，刺激电极 2 位于前囟后 3.5—4.0 mm，中缝右旁 3.5—3.8 mm(Xu et al., 1997, 1998a; Xu et al., 1998b; Dong et al., 2008)。刺激和记录电极的深度根据出现场电位波形来判断。整个实验过程中动物俯卧于电热毯上，体温控制在 37 $\pm$ 0.5 $^{\circ}$ C（肛表）。为维持实验所需的大鼠麻醉深度，动物腹腔置留导管，以便于必要时补充戊巴比妥钠。实验结束后探查大鼠海马，以核对电极位置。

记录兴奋性突触后膜电位

在位于海马的 Schaffer 侧枝刺激电极上，施加波宽 0.1 ms 的刺激方波，位于海马的 CA1 辐射层的记录电极就可以记录到群集兴奋性突触后膜电位即场电位波形（field Excitatory postsynaptic potential, fEPSP）。刺激和记录电极的深度是根据场电位波形的翻转变化以及 fEPSP 波的潜伏期等来确定。最佳的 fEPSP 波形判断标准是：当记录电极穿过胞体层时出现一个明显的场电位波形翻转过程，fEPSP 的 Peak-latency 为 8-15 毫秒，fEPSP 的最大幅值大于 3 毫伏。当取得最佳 fEPSP 波形后，通过改变刺激强度（一般为 2.5-5mv）来记录不同的 EPSP 值，做出输入/输出曲线，继而调整刺激强度直至相应的 fEPSP 幅值约为最大值的 50%。在实验过程中，以此刺激强度记录基础突触传递的 fEPSP。两条通路的独立性判断：以 40ms 时间间隔给出一次配对刺激，如果配对刺激后的 fEPSP 幅值与单独刺激时 fEPSP 幅值变化在 $\pm$ 10%以内，就认为这两条通路独立性符合实验要求(Xu et al., 1997, 1998a; Xu et al., 1998b; Dong et al., 2008)。记录 40 分钟基础突触传递的 fEPSP（每 30 sec 记录一次 fEPSP，两条通路轮流记录）作为 fEPSP 基线值。

诱导方案：两通路条件化作用方式：配对刺激（600 pulses, 5Hz）分别作用于两通路，条件通路 1（CP1）先于条件通路 2（CP2）给予刺激，两通路的 fEPSP 的 peak-interval 为 10ms，配对刺激 interval，根据 fEPSP 的 peak-latency 矫正（图 I）。诱导刺激结束后再记录 60 分钟 fEPSP（每 30 sec 记录一次 fEPSP，两条通路轮流记录）。把配对刺激后记录到最后 5 分钟的 fEPSP 值和诱导前记录的基线均值相比较就可判定是否诱导出 LTP 和或 LTD。

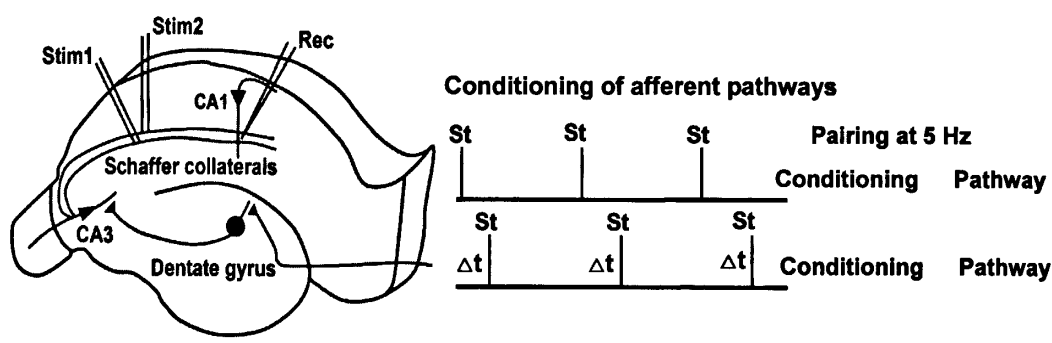


图. I 左：刺激及记录电极位置示意图； 右：诱导方案示意图

双通路独立程度计算

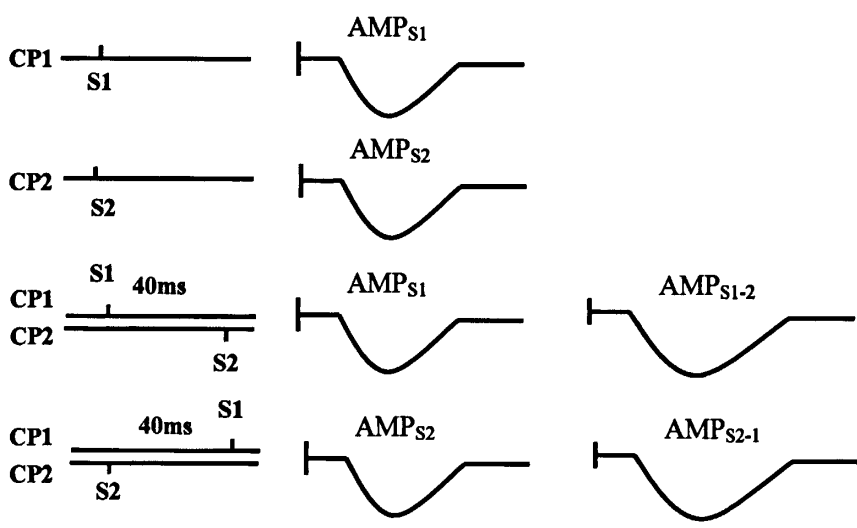


图. II 计算两条通路的重叠指数时的配对刺激示意图

AMP_{S1} 表示刺激 S1 在 Schaffer-CA1 通路 1 (Conditioning Pathway1, CP1) 诱发的 fEPSP 幅值, AMP_{S2} 表示刺激 S2 在 Schaffer-CA1 通路 2 (Conditioning Pathway2, CP2) 诱发的 fEPSP 幅值。如 CP1 先给出刺激, AMP_{S1-2} 表示 40ms 后, 刺激 S2 在 CP2 通路诱发的 fEPSP 幅值。如 CP2 先给出刺激, AMP_{S2-1} 表示 40ms 后, 刺激 S1 在 CP1 通路诱发的 fEPSP 幅值(图 II)。令 $A = AMP_{S1}$, $B = AMP_{S2}$, $C = AMP_{S1-2}$, $D = AMP_{S2-1}$, 则两条通路的重叠指数 (Overlapping index) = $C/B * 100\%$ (CP1 先给出刺激) 或 $D/A * 100\%$ (CP2 先给出刺激)。

双通路整合效应

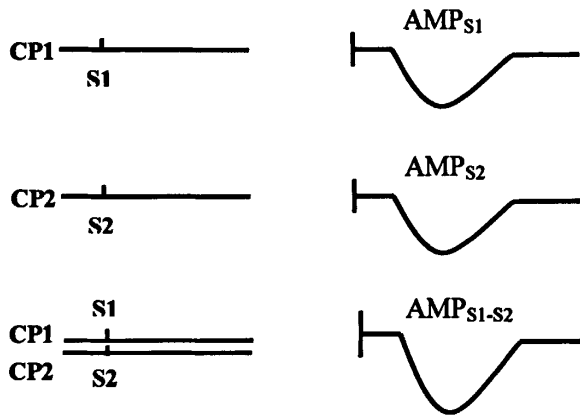


图. III 两条独立通路刺激整合模式图

通路 CP1 给出刺激 S1, 记录到 fEPSP 的幅值为 AMP_{S1} ; 间隔 30 S 后, 通路 CP2 给出刺激 S2, 记录到 fEPSP 的幅值为 AMP_{S2} ; 再间隔 30 S 后, 两条通路同时给出刺激, 记录到 fEPSP 的幅值为 AMP_{S1-2} (实际值)。两条通路单独刺激所得 fEPSP 的代数和称为期望值。空间整合结果表示为实际值与期望值的百分比, 即: $AMP_{S1-2} / (AMP_{S1} + AMP_{S2}) * 100\%$ (见图 III)。若整合结果为 100% 或超过 100%, 则说明整合结果是线性或超线性的; 若小于 100%, 则整合为亚线性的。

数据分析

所有的实验结果导入 Origin7.0 做图, 数据以平均值 $\pm$ 标准误 (Mean $\pm$ SEM) 表示。计量资料比较采用 t 检验统计处理, 计数资料比较采用 χ^2 检验, 所有数据导入 SPSS11.0 进行统计分析 ($p < 0.05$, 表示统计学上有显著性差异)。

3. 结果

3.1 海马 Schaffer-CA1 双通路条件化作用诱导出四种可塑性组合

我们发现海马 Schaffer-CA1 双通路条件化作用 (配对刺激: 600pulses, 5Hz),

可形成四种可塑性组合即 LTD/LTD, LTP/LTP, LTP/LTD, LTD/LTP (见图 1, 图 2)。既往曾有报道同突触 LTP 伴有异突触 LTD (Lynch et al., 1977; Scanziani et al., 1996; Royer and Pare, 2003), 或同突触 LTD 伴有异突触 LTP (Royer and Pare, 2003), 但是上述异突触可塑性, 没有经历突触前刺激诱导过程 (Induction), 往往被解释为伴随同突触可塑性而产生的涉及调节整体突触权重稳定性的一种成分。从另外的角度来说, 按照突触可塑性记忆理论 (SPM) (Martin et al., 2000), 这种异突触可塑性可能不直接参与信息编码的过程。我们发现的 LTP/LTD 或 LTD/LTP 的组合可塑性是在共同参与诱导或是交互诱导、互为条件刺激的前提下产生的, 因而按照 SPM 理论, 可能参与了信息编码的过程。再者, 按照数学的排列组合, 假设 LTD 为“0”, LTP 为“1”, 两两组合有四种可能即“00”, “01”, “10”, “11”, 我们的结果完全实现了所有的四种组合。因此, 我们首次证实了, 共同参与诱导的在体海马双通路上, 在低频配对刺激的条件化作用下, 可诱导出所有的四种可塑性组合。

3.2 海马 Schaffer-CA1 双通路是否独立不影响四种可塑性组合的分布

由表 1 可见, 独立的海马 Schaffer-CA1 双通路与不独立的双通路都出现了四种可塑性组合即 LTD/LTD, LTP/LTP, LTP/LTD, LTD/LTP, 而且 X^2 检验显示每种可塑性的组合形式的构成比, 在独立与不独立两组间无显著性差异, 提示了这种可塑性的分布形式可能广泛存在于多种生理状态, 不管通路间是否有相互重叠或是否独立。图 3 显示以独立性程度 (Overlapping index) 与可塑性 (LTP, LTD) 散点图呈不规则分布, 不能与常见数学方程拟合。结合表 1 结果, 通路间是否独立及独立程度可能都不影响组合可塑性的分布。

3.3 海马 Schaffer-CA1 近端突触整合与组合可塑性

由表 1 可见, Schaffer-CA1 近端突触整合显示为非线性整合, 与既往研究结果相一致, 纯粹 LTD/LTD 组合的双通路近端突触整合程度低于含 LTP 的其它可塑性组合, 提示了突触的空间整合可能会影响可塑性 (LTP, LTD) 的诱导及相应的可塑性组合。

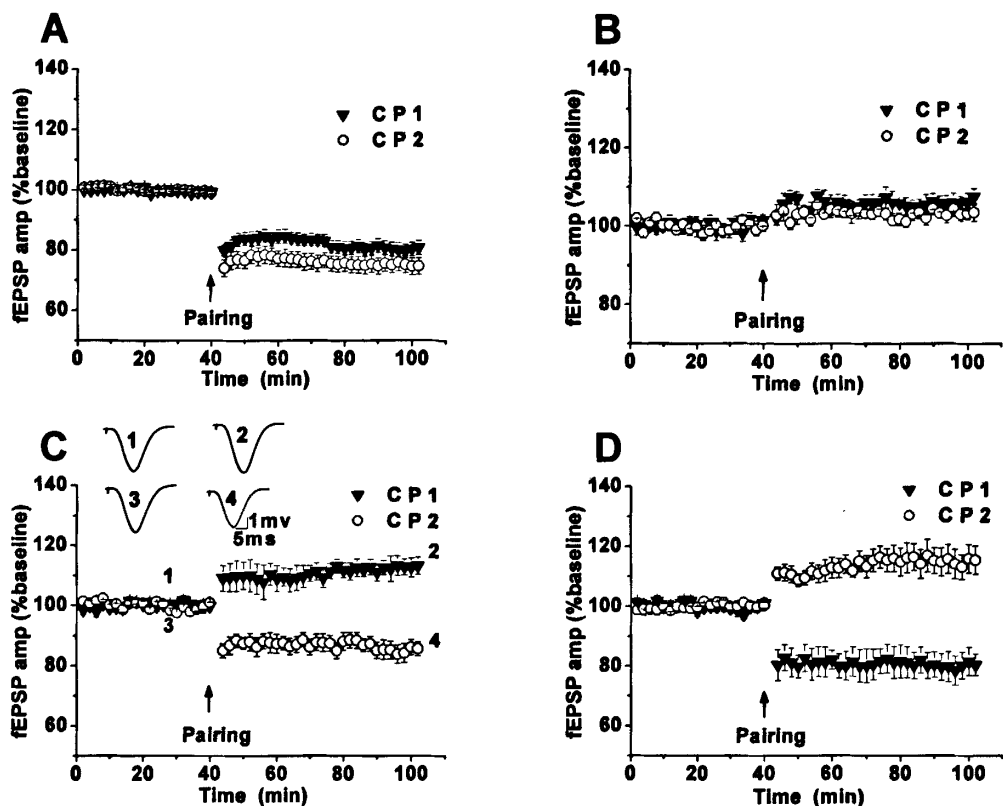


图.1 Schaffer-CA1 双通路条件化作用诱导出四种可塑性组合。

A, Schaffer-CA1 双通路条件化作用诱导出 LTD/LTD 组合, 其中 CP1 通路的 LTD 幅值小于 CP2 通路的 LTD 幅值 ($n=21$, CP1: $80.3 \pm 2.3\%$, $P<0.001$, vs. baseline; CP2: $75.2 \pm 2.7\%$, $P<0.001$, vs. baseline; $P<0.001$, CP1 vs. CP2.). B, Schaffer-CA1 双通路条件化作用诱导出 LTP/LTP 组合 ($n=4$, CP1: $105.6 \pm 2.0\%$, $P=0.006$, vs. baseline; CP2: $103.6 \pm 1.9\%$, $P=0.022$, vs. baseline; $P=0.197$, CP1 vs. CP2.). C, Schaffer-CA1 双通路条件化作用诱导出 LTP/LTD 组合 ($n=7$, CP1: $112.9 \pm 3.3\%$, $P<0.001$, vs. baseline; CP2: $85.0 \pm 2.8\%$, $P<0.001$, vs. baseline.). D, Schaffer-CA1 双通路条件化作用诱导出 LTD/LTP 组合 ($n=7$, CP1: $80.1 \pm 4.5\%$, $P<0.001$, vs. baseline; CP2: $114.9 \pm 4.7\%$, $P<0.001$, vs. baseline.) 插图是 C 图中 EPSP 的 trace 图。水平刻度: 5ms, 垂直刻度: 1mv.

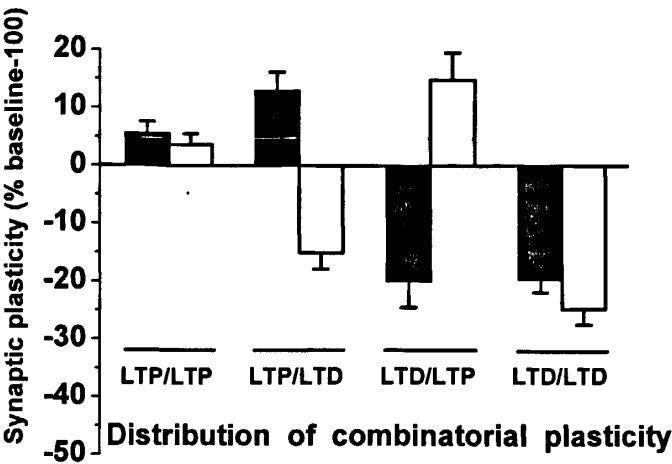


图. 2 海马 Schaffer-CA1 双通路组合可塑性分布
该图总结了海马 Schaffer-CA1 双通路条件化作用后，出现了 LTP/LTP, LTP/LTD, LTD/LTP, LTD/LTD 四种可塑性组合。

	N	LTP/LTP	LTP/LTD	LTD/LTP	LTD/LTD
独立性>90%	23	2(8.7%)	4(17.4%)	5(21.7%)	12(52.2%)
独立性<90%	16	2(12.5%)	3(18.8%)	2(12.5%)	9(56.2%)
合计	39	4(10.3%)	7(17.9%)	7(17.9%)	21(53.9%)
CA1 近端突触整合 (%)		69.6±4.7 *			66.3±4.0 *

表. 1 海马 Schaffer-CA1 双通路独立性及突触整合与组合可塑性分布
由表. 1 可见，无论海马 Schaffer-CA1 双通路是否独立，均可出现 LTP/LTP, LTP/LTD, LTD/LTP, LTD/LTD 四种可塑性组合，每种组合构成比在独立与不独立组间的 χ^2 检验均无显著性差异（LTP/LTP: $P=1.000$; LTP/LTD: $P=1.000$; LTD/LTP: $P=0.678$; LTD/LTD: $P=1.000$ ）。Schaffer-CA1 近端突触整合显示可塑性组合为 LTD/LTD 的突触整合程度低于含 LTP 可塑性组合（ $P=0.038$ ）（* $P<0.05$, t -test）。

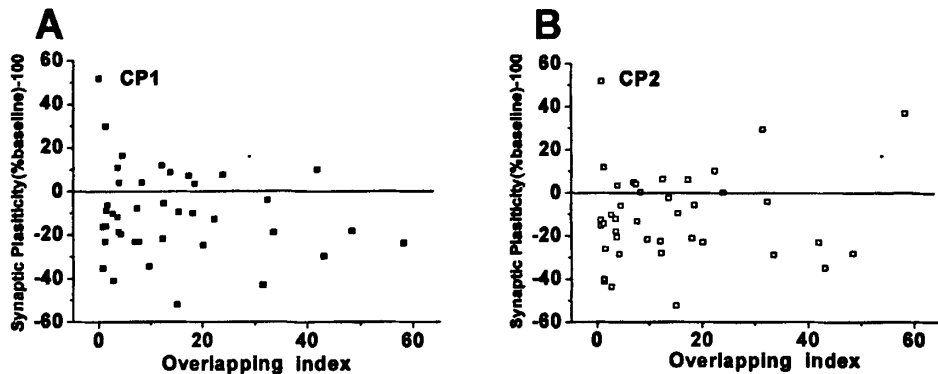


图. 3 重叠指数与海马突触可塑性

A, 当 CP2 先给出刺激, CP1 与 CP2 之间重叠指数与海马 Schaffer-CA1 突触可塑性的散点分布, 不能与常见数学方程相拟合, 呈不规则散点分布。B, 当 CP1 先给出刺激, CP1 与 CP2 之间重叠指数与海马 Schaffer-CA1 突触可塑性的散点分布, 不能与常见数学方程相拟合, 呈不规则散点分布。

4. 讨论

(1) LTP 与 LTD 共同参与了信息编码

我们的实验结果显示, 一种诱导方式实现了四种可塑性组合 LTD/LTD, LTP/LTP, LTP/LTD, LTD/LTP, 按照 SPM 理论, 提示了 LTP, LTD 可能共同参与了信息的编码过程。我们知道当不同突触处于不同的状态下, 可出现不同的突触可塑性(Xu et al., 1998; Li et al., 2003)。例如经典的低频刺激诱导 LTD, 可是当突触后同时给予适当程度的去极化后, 则既可诱导出 LTP, 也可可诱导出 LTD(Dudek and Bear, 1992; Mulkey and Malenka, 1992; Dudek and Bear, 1993; Caporale and Dan, 2008)。另外, 突触后钙信号量上的差异也决定着 LTP 或 LTD 的诱导, LTD 需要较温和的 Ca^{2+} 浓度升高(Malenka, 1991), 突触后 Ca^{2+} 水平能实现 LTP 和 LTD 转换(Nishiyama et al., 2000; Harney et al., 2006)。此外, 突触权重的本身也会影响可塑性的方向, 当高频刺激提高了突触效能后, 新颖空间的探索导致了 Depotentiation 的过程(Xu et al., 1998), 而 Naive 大鼠的新颖空间探索则易化了 LTP(Li et al., 2003)。STDP 理论认为, 在一定的时间窗内, 突触前的输入与突触后的 Spiking 的先后时序, 可导致不同的可塑性方向(Dan and Poo, 2004; Caporale and Dan, 2008)。在 TADP 实验中发现, Theta 节律的变化会引起 LTP/LTP 及 LTP/LTD 的转换(Dong et al., 2008)。综上所述, 当细胞突触后去极化程度、突

触后钙信号量上的差异、本身的突触权重、突触前的输入与突触后的 Spiking 的先后时序以及 Theta 节律等不同状态时, 同样事件或诱导活动可产生不同方向的突触可塑性。我们的实验结果显示了, 在体 Schaffer-CA1 双通路在相同的诱导条件下, 呈现了四种突触可塑性组合, 可能是由于上述不同的机制, 导致了不同突触, 可能处于不同的状态, 因而诱导出不同方向的突触可塑性。反过来也说明了, LTP 及 LTD 共同参与了信息编码。

（2）信息编码可能是由不同的 LTP 与 LTD 组合构成

研究表明海马参与了事件记忆, 对事件发生的空间及时间背景进行编码并与相应的事件形成联系(Eichenbaum et al., 2007)。因此可以想像, 在平常的生活中海量的信息需要海马瞬间处理, 其中部分以核酸-蛋白质合成依赖的方式得以巩固及再巩固(Dudai, 1996; Dudai and Eisenberg, 2004; Tronson and Taylor, 2007)。基于此, 不同电生理特征的突触可能随处可见, 或者突触的状态(或电生理特征)在动态变化着。基于此当经历海马依赖的事件时, 可能会在不同的突触上产生不同方向的突触可塑性。我们的实验证实, Schaffer-CA1 双通路在一次诱导下可形成四种可塑性组合, 我们提出假设, 许多突触及许多通路参与的信息编码过程中, 可能有许多不同的 LTP 和或 LTD 的组合, 可能如同数字“0”, “1”一样, 无数不同的组合编码不同信息。

此外, 突触可塑性还受多种方式的调节: (a) Metaplasticity. 突触既往活动历史的不同, 会影响现今的突触可塑性的诱导, 例如既往突触效能得到了增强, 而要想继续诱导 LTP 就会困难很多(142)。(b) Homeoplasticity. 当一个神经元的某些突触产生 LTP 时, 机体就会通过内环境稳态调节的方式, 通过控制神经元的发放率(Firing rate)来使得其它突触的 LTP 诱导难度加大(Turrigiano and Nelson, 2004; Turrigiano, 2008)。(c) Heterosynaptic plasticity. 众所周知 DA 受体及 β -肾上腺素受体的底物, 可作为异突触调节因子, 实现对突触可塑性的控制, 例如 D1/D5 拮抗剂可损害 LTP 的巩固, 使得 L-LTP 无法形成(Bailey et al., 2000)。这些调节机制一方面可能使得突触的状态呈现出更多的多样性, 另一方面也可能参与诱导或学习过程及诱导后的突触修饰, LTP 和或 LTD 的多种形式的自由组合来编码信息, 才可能更好的体现突触修饰的灵活性与多样性。

（3）LTP 与 LTD 的组合编码有助于提高编码效率以及突触效能的精确调节

既往的 SPM 理论往往以单一的突触效能增强来反映信息编码过程, 这是一种理想状态的可塑性改变, 它的前提是所有参与信息获取的突触都处于同一状态下, 或相似的电生理基线(Baseline), 这样当经历事件或活动诱导时出现整齐划

一的 LTP 或 LTD, 并以突触效能改变为唯一假设的编码依据。而我们提出的 LTP, LTD 共同编码信息, 体现了突触处于各种纷繁复杂的动态变化之中, 可能会出现不同的电生理状态, 继而经历事件或活动诱导时, 一方面引向了突触效能的变化, 另一方面由于突触的状态或电生理基线是不一致的, 而出现各种的 LTP 和或 LTD 的组合。我们突触组合可塑性编码可能以突触效能及突触组合两种形式来实现信息编码, 而突触组合可塑性编码犹如二进制数字“0”和“1”可显著提高编码效率及记忆容量。

学习记忆理论认为, 学习时需加工编码海量的信息, 只有少许的信息经过巩固及再巩固而得以存储及记忆信息的升级, 学习记忆过程中信息的扬弃(Dudai, 1996; Dudai and Eisenberg, 2004; Tronson and Taylor, 2007), 突触权重本身也会因突触漂移自然衰减(Shimizu et al., 2000; Cui et al., 2004), 这些都需要对突触权重进行精确调节。突触组合可塑性机制可能更有利于突触权重的精确调节。

我们的实验结果还提示, 通路的独立性对突触组合可塑性的分布没有影响, 提示突触组合可塑性假设的适用性很广。另外, 突触的空间整合也可能是影响海马组合突触可塑性的因素之一。

(二) 急性吗啡戒断对大鼠海马组合突触可塑性的影响

1. 实验目的

成瘾的特征是持续的对成瘾物质的渴求、持久的强迫性用药行为及持久的高复吸倾向, 这些特征都与学习记忆有密切关系(Hyman et al., 2006; Kauer and Malenka, 2007)。各种线索(Cues)往往通过巴甫洛夫经典条件反射和或操作条件反射建立了与成瘾物质奖赏效应之间的联系, 各种线索也因此而具备次级强化效应(Everitt and Robbins, 2005)。实验证实成瘾物质的用药环境能与用药体验间形成条件反射, 表现出条件位置偏爱(CPP)(Bardo and Bevins, 2000), 在自身给药动物经历了熄灭程序后, 用药环境能再度增强实验动物的觅药行为(Crombag and Shaham, 2002)。也有观点认为戒断症状及其相关条件化线索形成的条件厌恶构成了觅药行为的主要动机(Wikler, 1973; Solomon, 1980; Koob et al., 1989), 认为习得性戒断相关线索能激发对成瘾物质的渴求、觅药、复吸, 最终激发强迫性用药行为(Schulteis et al., 2000)。事实上, 条件化的环境线索成了提取成瘾记忆(包括奖赏相关或戒断体验相关的记忆)并导致持久的高复吸倾向以及持久的强迫性用药行为的重要原因(Schulteis et al., 2000; Tzschentke and Schmidt, 2003; Hyman et al., 2006)。海马在环境线索的条件化作用中有关键作用, 药理损毁海马后, 自身给药环境则不能激发实验动物的复吸行为(Fuchs et al., 2005)。海马是编码环境信息的重要脑区, 活动或经验依赖的海马突触可塑性是海马相关的空间学习与记忆, 以及海马加工事件记忆时空背景信息的细胞与分子基础(Morris, 2001; Eichenbaum, 2004; Eichenbaum et al., 2007; Manns et al., 2007)。因而了解物质成瘾对海马突触可塑性的影响, 有助于理解环境线索对成瘾行为的贡献, 并可能根据学习与记忆的机制终止环境线索对成瘾记忆的提取, 从而为临床治疗物质成瘾提供新思路。

既往曾有报道慢性吗啡给药后损害了海马 LTP, 戒断后损害的 LTP 渐渐恢复(Pu et al., 2002), 并于戒断的第四天易化了 LTP(Dong et al., 2006), 也有报道反复可卡因给药易化海马 LTP(Thompson et al., 2002; Thompson et al., 2004)。但是上述研究都是基于高频刺激诱导单通路海马 LTP, 而成瘾行为的学习大多是基于两条通路的交互作用, 如经典条件反射的建立及敏感化。Kandel 等在 1965 年证实, 海兔的电生理通路交互作用如同行为学条件反射一样, 产生通路突触效能的“学习”效应(Kandel and Tauc, 1965)。2004 年离体脑片实验证实了 Schaffer-CA1 上没有活性的通路, 通过与具有一定活性的另一通路的条件化作用(低频配对刺激), 诱导出 L-LTP, 并有助于甄别普通 HFS 诱导的 LTP 无法甄别的异常(Huang et al., 2004a)。2007 年曾有报道, 离体海马 CA1 远端突触与近端突触双通

路的交互作用（低频配对刺激），在近端突触诱导出 LTP(Dudman et al., 2007)。2008 年报道了在体海马 CA1 双通路条件化作用，诱导出了 LTP/LTP 及 LTP/LTD 组合可塑性(Dong et al., 2008)。海马双通路的条件化作用可实现 LTP 及 LTD 同时诱导，显示出诱导方式的优势，另一方面这种细胞水平的双通路条件化作用，可能更好地编码环境线索与用药体验（或戒断体验）之间行为学上的条件化作用。

基于此，我们想知道慢性吗啡处理对海马双通路条件化作用诱导的组合突触可塑性的影响，或许基于双通路条件化作用诱导的海马组合突触可塑性能更好的编码海马相关的成瘾记忆。

2. 材料与方法

实验动物

实验动物采用的是雄性 SD 大鼠（同系繁殖，昆明医学院，动物中心），体重 200-300g，动物分组饲养于中国科学院昆明动物研究所学习与记忆实验室，予以自由饮水和进食，每天控制 12 小时室内照明，以保持大鼠正常的昼夜节律，环境温度控制在 22-24℃。动物饲养及实验方案均获得中国科学院昆明动物研究所批准。

吗啡处理组动物连续 12 天吗啡注射，每天 2 次，间隔 12 小时，每次 10 毫克 / 千克（皮下注射）(Trujillo and Akil, 1991; Pu et al., 2002; Yang et al., 2004; Dong et al., 2006)，然后根据不同时间的戒断分为戒断 2 小时组、戒断 2 天组、戒断 4 天组及戒断 7 天组。对照组动物接受 12 天的生理盐水注射，程序同吗啡组。每组动物 6-8 只。

实验仪器及软件，电生理实验前的局部手术，记录兴奋性突触后膜电位

均同实验内容（一），详见30-33页。

药物及处理

大鼠戊巴比妥钠麻醉后（60 mg/kg, i.p.），给大鼠侧脑室埋入不锈钢套管（26 gauge, 11 mm），并予以牙托水泥在颅骨表面固定，侧脑室埋管坐标（前囟后 0.5 mm，中缝右旁 1.5mm，深 4mm）。在配对诱导前 10min，NMDAR 拮抗剂 AP-5 或 D1/D5 多巴胺受体拮抗剂 SCH23390（Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA）溶解于生理盐水经不锈钢套管注入侧脑室（Ap-5: 10mM, 6μl for 6min, i.c.v.;或 SCH23390: 15μg in 5μl for 5min, i.c.v.），对照组予以生理盐水经不锈钢套管注入侧脑室（6μl for 6min, i.c.v.）(Dong et al., 2008)。

数据分析

所有的实验结果导入 Origin7.0 做图, 数据以平均值±标准误 (Mean±SEM) 表示。组内计量资料比较采用 *t* 检验统计处理, 组间计量资料比较采用方差分析 (One-way analysis of variance, ANOVA), 所有数据导入 SPSS11.0 进行统计分析 ($p < 0.05$, 表示统计学上有显著性差异)。

3. 结果

3.1 反复吗啡处理增强了 LTD

低频刺激 (900 pulses at 3Hz 或 600 pulses at 5Hz) 均不能在反复生理盐水注射的大鼠海马 Schaffer-CA1 单通路上诱导出 LTP 或 LTD (见图 1A)。大鼠反复注射生理盐水后, 海马 Schaffer-CA1 双通路条件化作用 (配对刺激, 600 pulses at 5Hz) 能在两个通路上诱导出 LTD (见图 1B)。考虑到急性应激能易化海马 LTD (Xu et al., 1997), 反复生理盐水注射对于大鼠而言可能是个慢性应激过程, 因此导致了 LTD 的诱导。反复吗啡处理增强了海马 Schaffer-CA1 双通路条件化作用诱导的 LTD (见图 1D, 图 3)。低频刺激在反复吗啡处理组海马单通路上同样不能诱导出 LTP 或 LTD (见图 1C), 这个结果与以往的实验报道相一致 (Yang et al., 2004; Dong et al., 2006)。由此可见, 双通路条件化作用能诱导出单通路低频刺激无法诱导出的海马可塑性, 经典低频刺激无法诱导出的海马可塑性也可能参与了海马相关的信息加工处理过程。

3.2 吗啡戒断使增强的 LTD 得以恢复并易化了 LTP

与戒断 2 小时相比, 戒断 2 天及 4 天的增强的 LTD 幅值得到了明显的恢复; 与慢性生理盐水注射相比, 在条件通路 2 (CP2) 上的 LTD 已经完全恢复 (见图 2A, 图 3)。在戒断 4 天, 海马 Schaffer-CA1 双通路条件化作用诱导出了 LTP/LTD 组合可塑性 (见图 2C)。戒断 4 天易化了 LTP 与既往报道相一致 (Dong et al., 2006)。这种海马组合可塑性的增强可能是戒断体验相关记忆的细胞分子基础。同样地, 单通路低频刺激在戒断四天无法诱导出 LTP 或 LTD (见图 2B)。在戒断 7 天, 海马 Schaffer-CA1 双通路条件化作用诱导出了 LTD/LTD 组合可塑性 (见图 2D), LTD 的幅值与戒断 2 小时相比明显减小, 在 CP1 通路上的 LTD 与戒断 2 天的相似 (见图 3)。吗啡戒断期间, 增强的 LTD 逐渐恢复的过程, 与既往报道的吗啡戒断期间单通路上受损的 LTP 逐渐恢复的过程是相一致的, 反映了机体的内稳态调节 (Pu et al., 2002; Dong et al., 2006)。我们的结果除了增强的 LTD 逐渐恢复的过程以外, 在戒断四天还易化了 LTP, 于是我们推测可能是海马依赖的学习 (如: 环境-戒断体验的条件化作用) 促成了 LTD 向 LTP 的翻转。

3.3 海马 LTP/LTD 组合可塑性的诱导依赖于 NMDAR 及 D1/D5 受体

激活 NMDAR 对于海马 CA3-CA1 突触可塑性而言是很关键的, 被视为学习记忆的细胞底物(Luscher et al., 2000; Liu et al., 2004)。我们于是验证海马 Schaffer-CA1 双通路条件化作用是否需要 NMDAR 的激活。在戒断第 4 天, 脑室注射 NMDAR 拮抗剂 AP-5 (10mM in 6 μ l, i.c.v) 完全阻断了 LTP/LTD 组合可塑性的诱导 (见图 4B 上半部分)。而生理盐水的脑室注射 (6 μ l, i.c.v) 不影响海马 Schaffer-CA1 双通路条件化作用诱导的 LTP/LTD 组合可塑性。由此可见, LTP/LTD 组合可塑性的诱导依赖 NMDAR 的激活。成瘾物质通常会激活多巴胺系统, 而多巴胺的异突触调节是海马形成长久记忆的必要条件(O'Carroll et al., 2006), 多巴胺 (DA) 系统与谷氨酸 (Glu) 系统相互作用被认为是学习与成瘾的共同机制 (Tzschenke and Schmidt, 2003; Kelley, 2004; Smith et al., 2005)。我们进一步验证了海马 Schaffer-CA1 双通路条件化作用是否需要 D1/D5 受体的激活。在戒断第 4 天, 脑室注射 D1/D5 受体拮抗剂 SCH23390 (15 μ g in 5 μ l, i.c.v) 完全阻断了 LTP/LTD 组合可塑性的诱导 (见图 4B 下半部分)。这与 D1/D5 受体的激活对 Schaffer-CA1 突触可塑性的双向调节效应是相一致的(Sajikumar and Frey, 2004; Lemon and Manahan-Vaughan, 2006)。

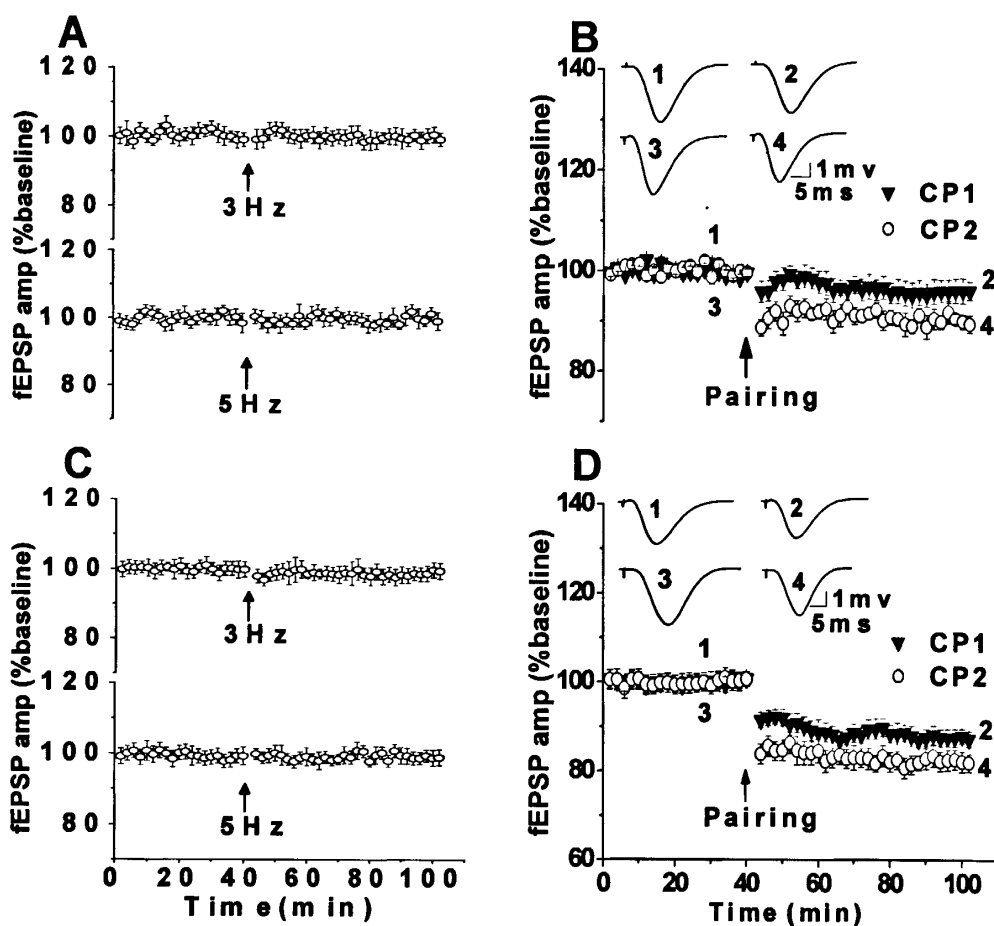


图. 1 反复吗啡处理增强了 LTD

A, 反复生理盐水注射后 2 小时, 低频刺激 (900 pulses at 3 Hz, 上半部分 或 600 pulses at 5 Hz, 下半部分) 在 CP1 通路上没能诱导出 LTP 或 LTD ($n=6$, CP1: $99.9 \pm 2.1\%$, $P=0.721$ vs. baseline, 上半部分; $n=6$, CP1: $100.3 \pm 2.2\%$, $P=0.696$ vs. baseline, 下半部分). B, 反复生理盐水注射后 2 小时, Schaffer-CA1 双通路条件化作用在 CP1 通路上诱导了幅值较小的 LTD, 在 CP2 通路上诱导了幅值较大的 LTD ($n=8$, CP1: $96.2 \pm 2.3\%$, $P<0.001$ vs. baseline; CP2: $90.5 \pm 1.5\%$, $P<0.001$ vs. baseline; $P<0.001$ CP1 vs. CP2). C, 反复吗啡处理后 2 小时, 低频刺激 (900 pulses at 3 Hz, 上半部分 或 600 pulses at 5 Hz, 下半部分) 在 CP1 通路上没能诱导出 LTP 或 LTD ($n=6$, CP1: $99.5 \pm 2.1\%$, $P=0.515$ vs. baseline, 上半部分; $n=6$, CP1: $98.9 \pm 2.0\%$, $P=0.689$ vs. baseline, 下半部分). D, 反复吗啡处理后 2 小时, Schaffer-CA1 双通路条件化作用在 CP1 通路上诱导了幅值较小的 LTD, 在 CP2 通路上诱导了幅值较大的 LTD ($n=8$, CP1: $87.6 \pm 1.7\%$, $P<0.001$ vs. baseline; CP2: $82.3 \pm 2.2\%$, $P<0.001$ vs. baseline; $P<0.001$ CP1 vs. CP2). 插图是 B 及 D 图中 EPSP 的 trace 图。水平刻度: 5ms, 垂直刻度: 1mv.

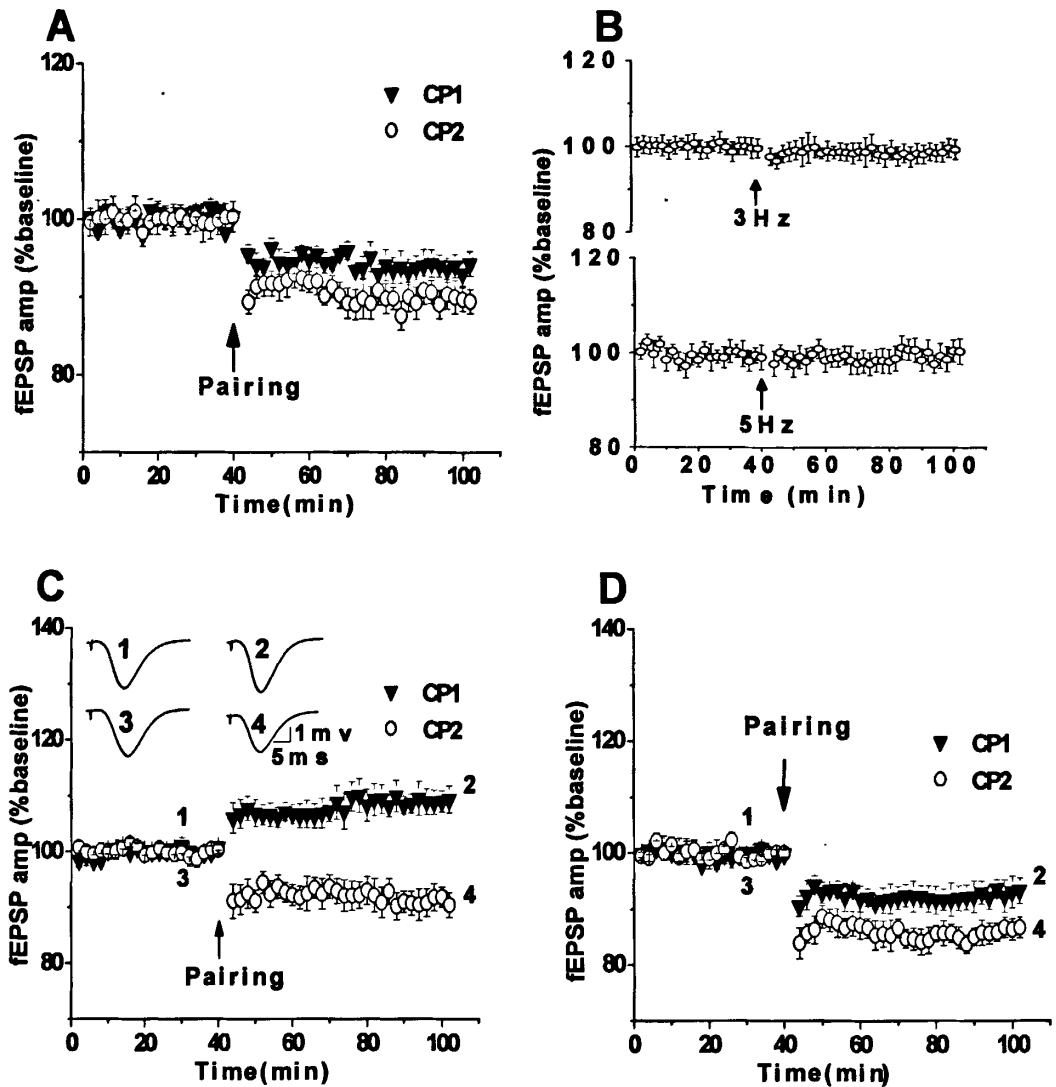


图. 2 吗啡戒断第 2, 7 天, 在 Schaffer-CA1 双通路上诱导出 LTD/LTD 组合可塑性, 吗啡戒断第 4 天, 诱导出 LTP/LTD 组合可塑性

A, 在戒断第 2 天, 双通路条件化作用在 CP1 诱导出幅值较小的 LTD, 在 CP2 诱导出幅值较大的 LTD ($n = 8$, CP1: $93.7 \pm 1.5\%$, $P < 0.001$ vs. baseline; CP2: $89.7 \pm 1.8\%$, $P < 0.001$ vs. baseline; $P < 0.001$ CP1 vs. CP2). B, 在戒断第 4 天, 低频刺激 (900 pulses at 3 Hz, 上半部分 或 600 pulses at 5 Hz, 下半部分) 在 CP1 通路上没能诱导出可塑性 ($n = 6$, CP1: $98.9 \pm 1.2\%$, $P = 0.163$ vs. baseline, 上半部分; $n = 6$, CP1: $99.3 \pm 2.5\%$, $P = 0.824$ vs. baseline, 下半部分). C, 在戒断第 4 天, 双通路条件化作用在 CP1 诱导出 LTP, 在 CP2 诱导出 LTD ($n = 8$, CP1: $109.1 \pm 1.9\%$, $P < 0.001$ vs. baseline; CP2: $91.1 \pm 2.2\%$, $P < 0.001$ vs. baseline). D, 在戒断第 7 天, 双通路条件化作用在 CP1 诱导出幅值较小的 LTD, 在 CP2 诱导出幅值较大的 LTD ($n = 8$, CP1: $92.9 \pm 2.3\%$, $P < 0.001$ vs. baseline; CP2: $86.2 \pm$

2.0%, $P < 0.001$ vs. baseline; $P < 0.001$ CP1 vs. CP2)。插图是 C 图中 EPSP 的 trace 图。水平刻度: 5ms, 垂直刻度: 1mv。

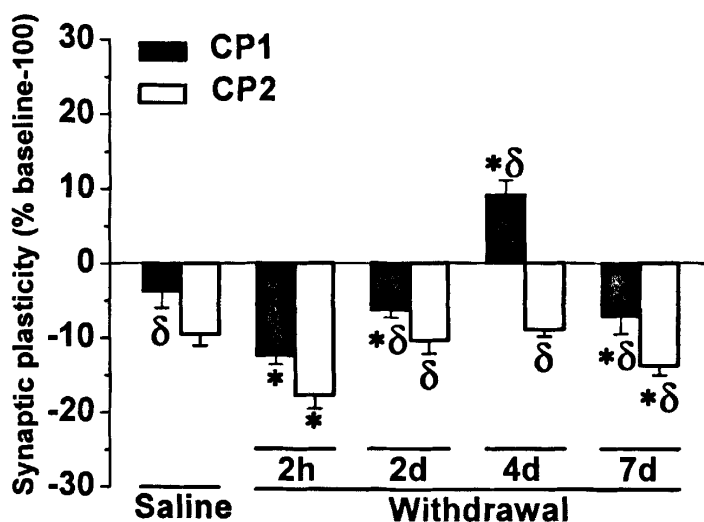


图. 3 吗啡戒断过程中增强的 LTD/LTD 组合可塑性逐渐恢复并诱导出 LTP/LTD 组合可塑性

反复吗啡处理后 2 小时 LTD/LTD 的幅值显著大于反复生理盐水处理组的 LTD/LTD ($*P < 0.001$, vs. Saline)。在吗啡戒断 2, 4 及 7 天, LTD 幅值显著低于戒断 2 小时组 ($^{\delta}P < 0.001$, vs. 2h)。在戒断第 2 及 4 天, 在 CP2 通路上的 LTD 与生理盐水组相比完全得到恢复 (CP2: $P = 0.666$, 2d vs. saline; CP2: $P = 0.982$, 4d vs. saline)。伴随着 LTD 的恢复, 在戒断第 4 天, 在 CP1 通路上诱导出 LTP。在戒断第 7 天, 在 CP1 通路上的 LTD 的幅值与戒断第 2 天类似 (CP1: $P = 0.499$, 7d vs. 2d), 因此, 伴随着吗啡戒断, 增强的 LTD 得到恢复。

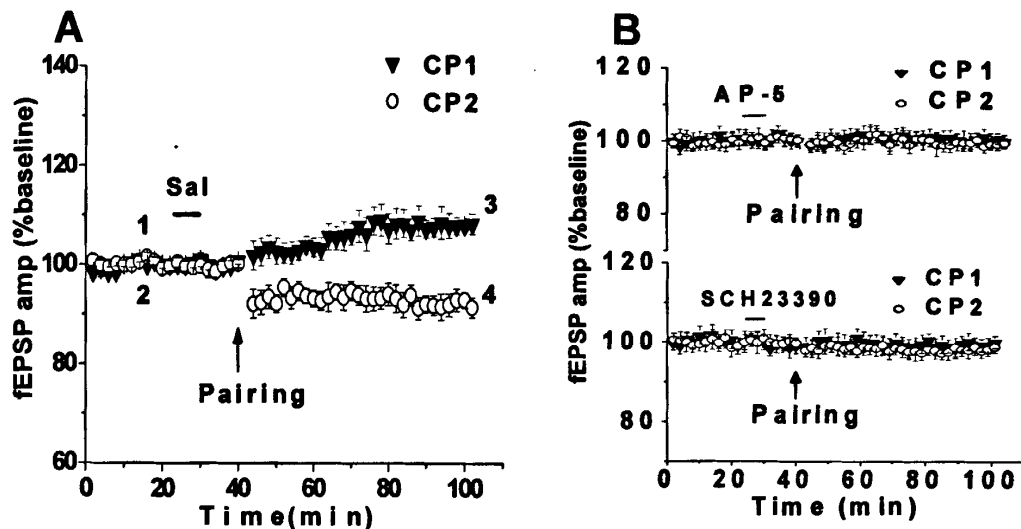


图. 4 吗啡戒断第 4 天, LTP/LTD 的诱导依赖 NMDAR 及 D1/D5 受体。

A, 脑室注射生理盐水 (6 μ l for 6min, i.c.v.) 不影响吗啡戒断第 4 天 LTP/LTD 的诱导 ($n=6$, CP1: $108.2 \pm 2.1\%$, $P < 0.001$ vs. baseline; CP2: $92.2 \pm 2.2\%$, $P < 0.001$ vs. baseline)。

B, 脑室注射 NMDAR 拮抗剂 AP-5 (10mM, 6 μ l for 6min, i.c.v.) 完全阻断了吗啡戒断第 4 天, LTP/LTD 的诱导 ($n=6$, CP1: $100.5 \pm 1.9\%$, $P = 0.746$ vs. baseline; CP2: $99.2 \pm 1.6\%$, $P = 0.448$ vs. baseline, 上半部分)。脑室注射 D1/D5 多巴胺受体拮抗剂 SCH 23390 (15 μ g, 5 μ l for 5min, i.c.v) 完全阻断了吗啡戒断第 4 天, LTP/LTD 的诱导 ($n=6$, CP1: $99.6 \pm 1.8\%$, $P = 0.659$ vs. baseline; CP2: $98.5 \pm 1.7\%$, $P = 0.192$ vs. baseline, 下半部分)。因此, 双通路条件化作用诱导的海马组合突触可塑性依赖 NMDAR 及 D1/D5 多巴胺受体的激活。

4. 讨论

本研究最主要的发现是: 反复的吗啡处理在 Schaffer-CA1 双通路上易化了双通路条件化作用诱导的 LTD, 在吗啡戒断第二天易化的 LTD 有所恢复, 然而在吗啡戒断第四天则诱导出 NMDAR 及 D1/D5 多巴胺受体依赖的 LTP/LTD 组合可塑性。我们的结果提示, 在成瘾物质戒断后有一关键时间窗, 编码了海马依赖的物质成瘾关联的环境信息。

吗啡戒断期间的海马 LTP 与环境-戒断状态条件化作用

海马最基本的功能是空间学习与记忆(Morris et al., 1986; Martin et al., 2005; Pastalkova et al., 2006), 环境线索与非条件刺激 (如: 奖赏、恐惧情绪及戒断相

关负性体验等)的条件化作用延伸了海马的功能(Maren, 2001; Meyers et al., 2006; Krasnova et al., 2008), 海马不仅在陈述性记忆中有关键作用, 在空间环境与正性或负性情绪的联合型学习中也起了不可替代的作用。大量的证据表明海马与成瘾关联的关键性 DA 回路如 VTA, Nac 间有着功能联系, 海马被认为是海马-VTA 环路新颖信息的入口(Vorel et al., 2001; Lisman and Grace, 2005; Ito et al., 2008)。事实上, 海马的谷氨酸能纤维广泛地投射向 Nac(McGeorge and Faull, 1989), 海马活动也可引起 VTA 的 DA 释放, 而发自 VTA 的 DA 能纤维也投射向海马并与 Schaffer 侧支相伴(Gasbarri et al., 1994)。VTA-Nac 是成瘾相关的中脑-边缘叶 DA 系统中的核心脑区, 成瘾物质一般会直接或间接激活 VTA 的 DA 神经元, 使得 Nac 的 DA 能投射增加, 这一连串的神经-生化反应是大部分成瘾行为的始动环节(Everitt and Robbins, 2005)。在正性强化理论中, 要解释条件化环境线索的奖赏效应, 也就离不开学习记忆机制在 DA 相关的奖赏学习中的重要作用(Hyman et al., 2006; Kauer and Malenka, 2007)。在负性强化理论中, 负性体验也是基于 DA 在多巴胺能系统中的过度作用, 才通过内稳态机制形成依赖, 进而形成戒断状态相关的负性体验。戒断体验消退后, 与学习记忆相关的条件化戒断体验, 如条件化环境线索, 可能会提取戒断记忆进而激发觅药动机(Schulteis et al., 2000; Koob & LeMoal, 1997, 2001)。由此可见, 成瘾的强迫性特征及持久性复吸倾向迫切需要引入学习记忆机制。基于此, 我们认为反复成瘾物质处理后的海马可塑性, 可能编码了环境-奖赏或环境-戒断状态的条件化作用, 形成了相关的成瘾记忆。

我们的结果显示, 慢性的吗啡皮下注射 12 天(能引起显著的吗啡依赖及耐受)(Trujillo and Akil, 1991; Pu et al., 2002; Yang et al., 2004; Dong et al., 2006)易化了 LTD, 这可能与吗啡依赖引起的神经适应性改变有关, 停药后得以充分暴露。伴随着吗啡戒断的进程, 增强的 LTD 逐渐得到恢复, 这可能是由于停药后, 神经适应内稳态调节的结果(Hyman et al., 2006)。既往研究也证实, 反复吗啡处理损害了 HFS 诱导的 LTP, 伴随着戒断的进程, 受损的 LTP 逐渐恢复(Pu et al., 2002; Dong et al., 2006)。由此可见, 慢性吗啡处理后出现了病理性神经适应性变化, 在停止用药的戒断期间, 出现生理性内稳态调节, 恢复吗啡慢性处理过程中的神经适应性变化。在双通路可塑性中, 停药后的内稳态调节应该把增强的 LTD 恢复至接近用药前的水平(生理盐水对照组的水平), 但不应该把突触可塑性引向反方向(LTP)调节, 否则不符合内稳态调节的基本原理。因此, 我们认为应该有某种机制联合了内稳态调节机制(Hyman et al., 2006), 促成了戒断 4 天的 LTP 诱导。LTP 往往被认为是神经可塑性介导学习记忆的细胞分子模型(Lynch, 2004)。我们认为环境线索-戒断状态的联合型学习, 对吗啡戒断过程中海马 LTP 的形成可能起了关键作用。环境线索-戒断状态之间条件化作用(Lu et al., 2005), 参与形

成了戒断记忆,是环境线索触发条件化戒断状态,进而形成觅药动机、对成瘾物质的渴求以及觅药行为乃至复吸的基础。当然,环境线索-戒断状态的联合型学习与神经适应性相关的内稳态调节,可能共同促成了戒断 4 天海马 LTP 的诱导以及戒断记忆的形成。有研究提示戒断状态能提高阿片类物质的动机价值(Ahmed et al., 2000; Hutcheson et al., 2001),通过动机学习,可能会增加环境线索的动机凸显。无论动机-激励假设或负性强化理论均认为戒断状态会推动强迫性觅药行为(Ahmed et al., 2000; Hutcheson et al., 2001; Lu et al., 2005),而条件化环境线索对戒断记忆的提取,可能是强迫性觅药及复吸行为重要的内在机制之一。

此外,我们的结果还提示有一个关键戒断时间窗,在此期间 LTP 被诱导。因此如果能终止戒断 LTP 的形成,可能环境线索可能会失去对戒断记忆的提取作用,减少环境线索诱发复吸的风险。

行为学条件化作用与细胞水平的条件化作用

我们的诱导方案显示两条 Schaffer-CA1 通路的条件化作用导致了突触效能发生了变化(Huang et al., 2004a; Dudman et al., 2007; Dong et al., 2008)。这种细胞水平的通路间的条件化作用在一定程度上模拟了行为学的条件化作用过程。这种细胞水平的条件化作用发生在起初没有活性的两条通路上,通过条件化作用最终激发并完成了突触效能的改变(Dudman et al., 2007; Dong et al., 2008)。这种通路间条件化作用诱导的 LTP,相对于 HFS 而言,刺激强度较小,更符合生理特性。此外,双通路的条件化作用能同时诱导产生 LTP 和 LTD,因而诱导结果完全取决于突触的状态。这种类型的突触可塑性曾被称为 TADP,需要激活 NMDAR(Dudman et al., 2007; Dong et al., 2008),可能无需突触后强大去极化作用,这点上不同于基于 Hebb 假设的 STDP(Bi and Poo, 2001; Dudman et al., 2007)。

此外我们的研究首次证实了反复吗啡处理后, Schaffer-CA1 双通路的条件化作用易化了 LTD,既往研究证实反复吗啡处理损害了 LTP,却无法在单通路上以 LFS 诱导出 LTD(Yang et al., 2004; Dong et al., 2006)。LTD 可能不仅仅被视为提高信-噪比(Dayan and Willshaw, 1991)或遗忘(Tsumoto, 1993),LTP 与 LTD 的合作与竞争对于神经可塑性的稳定性与灵活性具有重要意义(Miller, 1996; Xu et al., 1998; Dong et al., 2008)。因此,我们的发现有助于全面理解反复吗啡处理后的动态的全景式的突触可塑性变化。从 LTD 到 LTP,每种形式的突触可塑性都能被自由诱导,能很容易的相互转换,可塑性的变化完全取决于细胞本身的状态。因而双通路条件化作用诱导的突触可塑性更接近细胞的生理状态,我们认为这种诱导方式很有前景,这种方式诱导的突触可塑性可能更好地编码行为学的条件化作用。从 LTD/LTD 海马组合突触可塑性到 LTP/LTD 组合可塑性,也从细胞分子水

平反映了慢性吗啡处理后, 海马 CA1 神经适应性变化, 这种神经适应性变化可能也反映了海马相关的物质成瘾记忆信息的编码及存储, 可能是条件化环境线索提取海马依赖的成瘾记忆的基础, 也可能是条件化环境线索触发强迫性觅药行为乃至复吸的内在机制。

DA-Glu 机制与细胞水平的条件化作用及环境-戒断状态的条件化作用

有证据表明 D2 和 D1 多巴胺受体家族在海马都有表达。D1 受体在 DA 相关的学习中发挥了更大的作用(Huang et al., 1992; Kobayashi et al., 1994; Beninger and Miller, 1998)。我们的数据显示 D1/D5 多巴胺受体阻断剂能阻断 LTP/LTD 组合可塑性。因此环境线索的条件化作用, 在戒断第四天可能通过激活 D1 多巴胺受体, 引起 cAMP/PKA/CREB 途径或 cAMP/PKA/DARPP-32/PP1 信号转导通路导致 NMDAR 依赖的 LTP/LTD 组合突触可塑性的产生(Greengard et al., 1999)。研究证实, 激活 D1/D5 多巴胺受体的对于在海马持久的记忆形成是必须的(O'Carroll et al., 2006)。此外, DA 神经元轴突末梢与谷氨酸能神经末梢在海马 CA1 区域交叉分布(Bailey et al., 2000), 为 DA 能及 Glu 能的相互作用提供了结构基础。因此, DA-Glu 机制反映了环境线索-戒断状态之间的联合型学习, 激活了海马 CA1 的 D1/D5 多巴胺受体, 通过 DA 能作用调制了 NMDAR 依赖的海马突触可塑性(Glu 机制), 为 LTP 的诱导及维持提供了必要的分子环境, 也为环境线索关联的戒断记忆的形成提供了可能的机制。因此, DA-Glu 机制可能参与了细胞水平的条件化作用及行为学的环境线索条件化作用, 对于慢性吗啡处理后组合突触可塑性的产生及维持, 对环境线索相关成瘾记忆的形成可能都是至关重要的。

总之, 吗啡戒断期诱导出了海马 Schaffer-CA1 组合突触可塑性 LTP/LTD, 这种组合突触可塑性可能参与编码了海马依赖的环境线索-戒断状态的条件化作用, 进而形成了环境线索相关的戒断记忆。DA-Glu 机制可能在行为学的环境线索条件化作用及细胞水平 Schaffer-CA1 双通路条件化作用中发挥了重要作用。此外, 在关键戒断时间窗阻断 LTP 的形成, 可能有助于熄灭环境线索对戒断记忆的有效提取, 进而减少环境线索触发强迫性觅药行为及复吸行为的风险。

(三) 反复吗啡戒断对大鼠海马组合突触可塑性及 AMPA 受体表达和自发活动的影响

1. 实验目的

成瘾作为一种精神障碍在临床治疗上的最主要的困难在于无法有效干预复吸 (Relapse) 问题, 主要体现在戒断后仍然出现强迫性觅药行为, 最终表现为持久的高复吸风险(Hyman et al., 2006)。正性强化理论强调 DA 为主导的奖赏效应是觅药行为的强大内驱力(Montague et al., 2004); 负性强化理论注重对戒断症状及其相关条件化线索的逃避构成了觅药行为的主要动机(Wikler, 1973; Solomon, 1980; Koob et al., 1989); 动机敏感化认为成瘾物质反复使用, 使得成瘾物质及与奖赏相关的线索被赋予强大的动机并逐渐敏感化, 导致觅药动机敏感化(Robinson and Berridge, 1993, 2003)。学习理论认为与成瘾物质关联的线索能提取成瘾记忆是导致强迫性觅药行为的主要原因(Hyman et al., 2006)。实际上, 物质成瘾很难用一种理论能完全解释清楚, 而且各理论间也在某些环节或因素上也是互相依存。有研究表明, 有过戒断体验的大鼠当再次戒断时会被激发出更强烈的觅药行为, 并提出了动机-激励假说, 认为戒断激发的动机学习, 使得再次戒断时出现更强的渴求(Hutcheson et al., 2001)。对于戒断对强迫性觅药行为的贡献, 各种成瘾理论观点不一。也有实验证实戒断学习使得 Nac、VTA、杏仁核及海马等中脑边缘叶回路的 c-fos 的表达增加(Frenois et al., 2005), 为戒断提升动机评价及激发觅药行为提供了可能的机制。

海马与成瘾相关的奖赏回路如: VTA-Nac 之间有着广泛的联系。一方面 VTA 的 DA 能纤维沿着 Schaffer 纤维在海马 CA1 区有着广泛的投射, 构成了 DA 系统对海马可塑性影响的结构基础(Gasbarri et al., 1994; Bailey et al., 2000)。大量的研究证实, DA 的异突触调节作用对 L-LTP 是充分的, 也是必须的(Huang and Kandel, 1995; Bailey et al., 2000), 而 L-LTP 是长时记忆 (Long-term memory) 及记忆巩固的基础。另一方面, 海马也有大量的 Glu 能纤维投射至 Nac 等区域(McGeorge and Faull, 1989), 海马作为新颖性的入口, 海马新颖性探索会产生 DA 依赖的海马 LTP(Li et al., 2003)。成瘾强迫性觅药行为以及持久高复吸倾向性的特征, 迫使成瘾的研究者开始关注 Glu 能为代表的学习记忆相关脑区, 与 DA 假说为核心的成瘾行为之间的联系。海马是事件记忆的关键脑区, 负责事件发生的空间及时间背景方面的学习与记忆(Eichenbaum et al., 2007; Manns et al., 2007), 海马突触可塑性作为海马关联的学习与记忆的分子与细胞的基础已得到广泛认可(Martin et al., 2000; Citri and Malenka, 2008)。此外, 研究证实刺激海马下托可激发实验动物的觅药行为, 该行为与 VTA 区域 Glu 释放增加有关联(Vorel et al.,

2001)。我们的前期实验也证实了吗啡戒断后存在一个关键的时间窗,在该时间窗海马 Schaffer-CA1 双通路的条件化作用诱导出了 LTP/LTD 的组合可塑性。我们认为戒断是成瘾过程中的一个组成部分(许多成瘾者往往处于物质依赖-戒断-复吸的反复循环之中),它一方面可能巩固或再巩固了成瘾物质依赖期的奖赏关联的成瘾记忆,也可能在戒断期间形成了戒断状态关联的新的学习记忆,并可能会增强再次戒断时的觅药行为。基于此,我们展开了反复戒断的研究,观察反复戒断后对海马组合可塑性的影响。

成瘾物质有一个共同的特征,那便是伴随着成瘾物质的反复使用,能增强实验动物的自发活动即运动敏感化。动机敏感化的理论基础便源于此现象,既然运动可出现敏感化,那觅药动机也可能会敏感化(Robinson and Berridge, 1993, 2003)。敏感化与成瘾有关主要有如下特征(Tzschentke and Schmidt, 2003): (1) 敏感化具有持久性的特点,停止给药后数月,仍然持续存在(Robinson and Becker, 1986)。(2) 敏感化程度预示着复吸风险,运动敏感化强烈的实验动物更容易复吸(De Vries et al., 1998)。(3) 敏感化易化了自身给药行为(Schenk and Partridge, 2000)。自发活动敏感化也往往被认为是强迫性觅药行为及复吸的可能原因之一(Robinson and Berridge, 1993, 2003)。我们检测了反复戒断大鼠的自发活动,观察反复戒断对大鼠自发活动敏感化的形成及表达的影响。

海马谷氨酸机制在可卡因复吸行为可能也有作用,有研究证实电刺激海马下托谷氨酸能纤维,激发了 VTA 谷氨酸依赖的可卡因觅药行为(Vorel et al., 2001)。AMPA 对在 LTP 表达起了关键作用,在成熟海马 CA3-CA1 的 AMPAR 主要由 GluR1/GluR2 构成(Derkach et al., 2007)。GluR1 的 C 末端 Ser831 被 CaMKII 磷酸化,并形成了 GluR2-lacking AMPAR,增加钙通透性,在 E-LTP 中起了关键作用(Derkach et al., 2007)。近来有报道可卡因戒断 45 天后 Nac 的 GluR1 表达增加,并提出增加的 GluR2-lacking AMPAR 可能介导了可卡因渴求及复吸行为(Conrad et al., 2008)。因此,我们对反复戒断大鼠海马进行了免疫印迹检测,观察反复戒断对海马 GluR1 及 GluR2/3 表达的影响。

2. 材料与方法

实验动物

实验动物采用的是雄性 SD 大鼠(同系繁殖,昆明医学院,动物中心),体重 200-300g,动物分组饲养于中国科学院昆明动物研究所学习与记忆实验室,予以自由饮水和进食,每天控制 12 小时室内照明,以保持大鼠正常的昼夜节律,环境温度控制在 22-24℃。动物饲养及实验方案均获得中国科学院昆明动物研究

所批准。

吗啡处理组动物连续 12 天吗啡注射，每天 2 次，间隔 12 小时，每次 10 毫克 / 千克（皮下注射）(Trujillo and Akil, 1991; Pu et al., 2002; Yang et al., 2004; Dong et al., 2006)，然后根据不同戒断时间，电生理实验组分为：慢性吗啡处理组（首次戒断 2 小时组）、首次戒断 4 天组、三次戒断 3 天组、三次戒断 4 天组、三次戒断 5 天组、三次戒断 6 天组，每组 8 只大鼠。对照组动物接受 12 天的生理盐水注射，程序同吗啡组，每组 8 只大鼠。自发活动行为学实验分为：生理盐水组、慢性吗啡处理组首次戒断 4 天组、慢性吗啡处理组三次戒断 4 天组，每组 8 只大鼠。免疫印迹实验组分为：生理盐水组、慢性吗啡处理组首次戒断 4 天组、慢性吗啡处理组三次戒断 4 天组，每组 8 只大鼠。

实验仪器及软件，电生理实验前的局部手术，记录兴奋性突触后膜电位。

均同实验内容（一），详见46-48页。

实验流程（如图. I 所示）

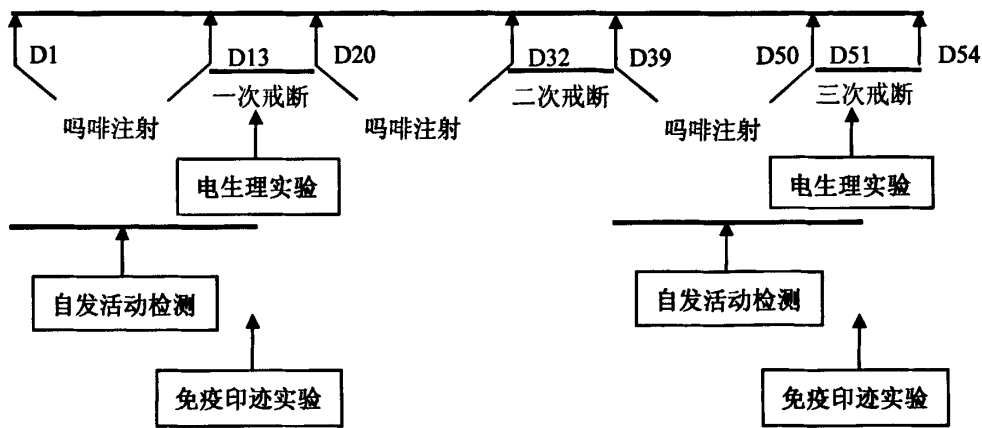


图. I 实验流程图（D, 天）

自发活动检测

大鼠自发活动检测系统由观察箱、摄像头及视频合成装置（摄像头内置在每个观察箱的顶部，视频合成装置可以同时合成每个观察箱的视频图像）、视频采集卡及自发活动视频分析软件（DigBehv 动物行为分析系统）组成。本实验所使用的大鼠自发活动检测系统，购自上海吉量软件科技有限公司。观察箱尺寸（内径，长×宽×高）：40×40×65cm，具体检测流程（如图 II 所示）。

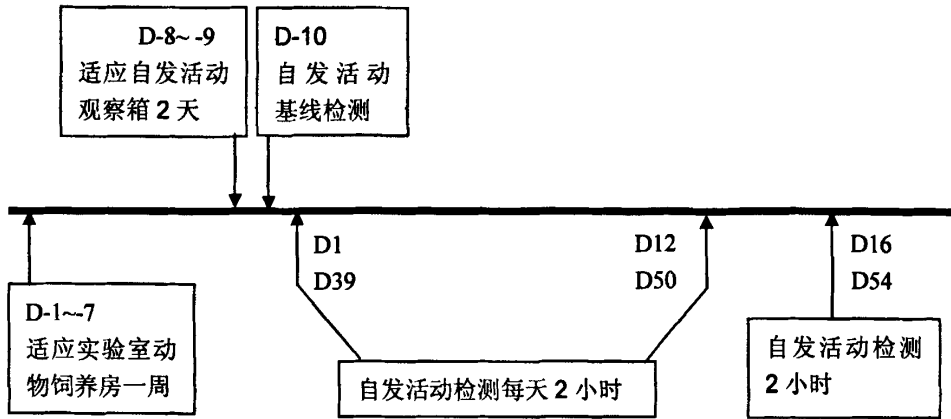


图. II 自发活动检测流程图 (D, 天)

免疫印迹 (Western blotting)

膜蛋白提取: 迅速取脑, 分离海马组织。海马组织加入 10 mM Tris-HCl 裂解液 (0.32 M 蔗糖、1 mM EDTA、0.1 mM PMSF、PH 7.4、蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂、0.2 mM DTT 等) 匀浆后, 700 ×g 条件下 4°C 离心 10 分钟。沉淀重复离心一次。混合两次低速离心的上清。上清 37000×g 条件下离心 40 分钟, 可见蛋白微粒沉淀于管底。将蛋白微粒溶于 5 mM Tris-HCl 重悬缓冲溶液中 (0.5 mM EDTA、1mM MgSO₄、PH 7.4、蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂)。

突触小体制备: 采用蔗糖密度梯度离心来提取突触小体。梯度离心 (Gradient Centrifugation) 是把待分离的物质置于具有密度梯度的介质中进行的离心, 依靠它们的密度不同而进行分离。采用蔗糖作为介质, 在离心管内形成一不连续的密度梯度 (从上到下依次为 0.8 M 和 1.2 M), 将粗提到的组织样本置于蔗糖梯度的顶部。在梯度介质中, 当待分离的物质分别达到与其密度相同的介质部位时就不再移动, 从而达到分离的目的。流程如下: 1) 海马匀浆后, 经 1000×g 离心得到的上清 (S1) 在 17000×g 离心 15 分钟, 留取沉淀部分。2) 将沉淀重悬于蛋白提取液, 重悬后的混合液置于蔗糖梯度的顶部。3) 54000×g, 4°C 条件下离心 90 分钟, 离心机为 Beckman L-XP 冷冻超速离心机转子型号为 SW28。4) 收集 1.2 M 蔗糖和 0.8 M 蔗糖之间的界面处悬浮的乳白色颗粒状物质, 即提取得到的比较纯的突触小体组分。5) 将收集得到的悬浮液在 78500×g, 4°C 条件下离心 20 分钟。6) 沉淀重悬于 5 mM Tris-HCl 缓冲液。

蛋白浓度的测定: 海马匀浆和突触小体中的蛋白提取液经蛋白浓度测定 (DC,

Protein Assay 试剂盒, BIO-RAD 公司) 后, 稀释到 1 微克蛋白/微升, -80°C 保存。

SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳操作流程: 制胶模具的准备(根据厂家说明书, 本实验室的模具购自 Bio-Rad 公司), 分别灌制分离胶和浓缩胶, 分离胶浓度视目的蛋白的大小确定(7.5-15 %)。蛋白样本加入 $4\times$ 加样缓冲液, 100°C 煮 3-5 min 使蛋白完全变性, 然后加样。100-200 V 电泳分离, 卸胶。

转移及免疫反应: 取硝酸纤维素膜或 PVDF 膜, 盖在凝胶上, 电转移 1-3 小时(电压 100V) (转移时间由抗原的特性以及转移缓冲液中 SDS 的含量而定, 一般为 1 小时), 胶为负极, 膜为正极。取出硝酸纤维素膜, 在 TBST 缓冲液中短暂漂洗, 放入封闭液中, 温和振荡 30 分钟。把膜放入第一抗体中, 温和振荡 30 分钟后放入 4°C 冰箱过夜或室温下反应 2 小时, 回收第一抗体, 在 TBST 中洗膜 30 分钟, 中间更换 TBST 2-3 次。把膜置于荧光标记的第二抗体中, 温和振荡 1-2 小时(避光), 在 TBST 中洗膜 2-3 小时, 中间更换 4 次以上(避光)。沥干膜以待扫描定量。(抗 GluR1 的多克隆抗体(1:500; Millipore); 抗 GluR2/3 的多克隆抗体(1:500; Millipore))。

扫描和定量: 在 Odyssey 荧光成像系统(LI-COR Biosciences, USA) 中进行。膜经过扫描后, 在其自带的荧光定量软件中进行定量分析, 得到相应的强度值。为了使不同胶上的样本具有可比性, 每块胶我们都引入了三孔同样的空白对照大鼠的皮层样本, 作为标准。对照动物和实验动物的数据都经过同块胶上的皮层样本的校正之后, 再计算出实验数据和对照数据的相对的百分比。

数据分析

所有的实验结果导入 Origin7.0 做图, 数据以平均值 $\pm$ 标准误 (Mean $\pm$ SEM) 表示。组内计量资料比较采用 t 检验统计处理, 组间计量资料比较采用方差分析 (One-way analysis of variance, ANOVA), 所有数据导入 SPSS11.0 进行统计分析 ($p < 0.05$, 表示统计学上有显著性差异)。

3. 结果

3.1 反复吗啡戒断易化了海马 LTP/LTP 组合可塑性

反复吗啡皮下注射每天两次, 连续 12 天, 能引起显著的吗啡依赖及耐受, 我们的前期工作已经证实, 这种没有经历戒断的慢性吗啡处理增强了海马 LTD/LTD 的组合可塑性 (图 1A, 上半部分), LTD 的幅值大于经历单次或反复戒断的吗啡处理组以及生理盐水处理组 (图 1A, 下半部分, 图 2C)。经历首次戒断的在戒断第四天出现 LTP/LTD 海马组合可塑性, 结果与前期实验相一致 (图

1B)。然而, 经历反复戒断吗啡处理组在三次戒断的第 4, 5 天, 易化了 LTP/LTP 海马组合可塑性(图 1C, 图 1D), LTP 的幅值显著大于首次戒断组(图 2C)。我们的结果显示未经历戒断的慢性吗啡处理组易化了 LTD, 在海马组合可塑性上表现为 LTD/LTD 组合可塑性。经历了戒断的慢性吗啡处理组易化了 LTP, 单次戒断组在海马组合可塑性上表现为 LTP/LTD 组合可塑性, 而反复戒断的慢性吗啡处理组(三次戒断)在海马组合可塑性上表现为 LTP/LTP 组合可塑性。吗啡戒断易化海马 LTP 与既往研究结果相一致(Dong et al., 2006), 慢性吗啡处理易化 LTD 也与慢性吗啡处理损害 LTP 的既往研究结果不矛盾(Pu et al., 2002; Dong et al., 2006)。

3.2 吗啡戒断易化 LTP 呈现时间依赖性

三次戒断第 3 天, 出现了 LTP/LTD 组合可塑性的趋势, 然而与基线相比无显著差异(图 2A)。三次戒断第 6 天, 出现了 LTD/LTD 组合可塑性的趋势, 在 CP2 通路上诱导出与基线相比有显著差异的 LTD(图 2B)。结合我们前期的研究发现, 单次戒断慢性吗啡处理组在戒断第 4 天易化了 LTP, 以及本实验显示三次戒断慢性吗啡处理组在戒断第 4, 5 天易化了 LTP, 可以看出吗啡戒断易化 LTP 呈现时间依赖性, 离开了关键戒断时间窗, LTP 的易化效应消失。图 2C 显示, 反复戒断延长了易化 LTP 的时间窗, 在 LTP 的幅值上也表明了反复戒断增强了戒断易化 LTP 的效应。

3.3 反复吗啡戒断增强了运动敏感化

慢性吗啡处理在运动敏感化形成期实验动物的自发活动增多(水平移动的距离为观察指标), 在戒断后四天点燃显示出了运动敏感化的表达(图 3A, 图 3B), 与既往研究报道吗啡可导致大鼠运动敏感化的结果相一致(Carlezon et al., 1997; Hyman et al., 2006)。然而我们的实验结果清晰的显示了经历了反复戒断的大鼠在运动敏感化形成期, 与没有戒断经历的大鼠相比, 自发活动均显著增多; 在运动敏感化表达期, 反复戒断大鼠的自发活动均显著多于首次戒断组(图 3A, 图 3B)。根据动机敏感化成瘾理论, 反复戒断大鼠表现性出更强烈的药物渴求及觅药行为(Robinson and Berridge, 1993, 2003)。

3.4 反复吗啡戒断对大鼠海马 GluR1 及 GluR2/3 表达的影响

因为涉及与其它实验室的合作, 这部分实验结果还在分析处理中。

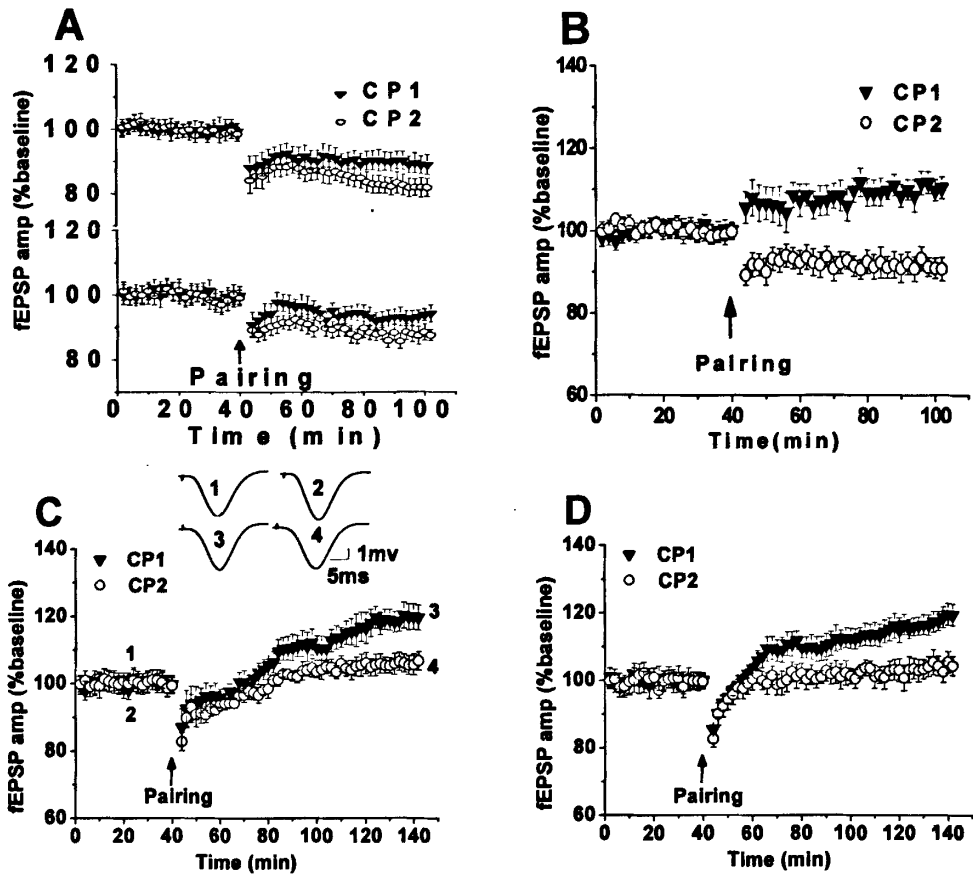


图. 1 反复吗啡戒断易化了海马 LTP/LTP 组合可塑性。

A, 未经历过戒断的大鼠吗啡反复注射, 易化了海马 LTD/LTD 组合可塑性。双通路条件化作用在 CP1 诱导出幅值较小的 LTD, 在 CP2 诱导出幅值较大的 LTD ($n=8$, CP1: $89.1 \pm 3.1\%$, $P < 0.001$ vs. baseline; CP2: $81.0 \pm 2.3\%$, $P < 0.001$ vs. baseline; $P < 0.001$, CP1 vs. CP2 上半部分)。生理盐水反复注射, 易化了海马 LTD/LTD 组合可塑性。双通路条件化作用在 CP1 诱导出幅值较小的 LTD, 在 CP2 诱导出幅值较大的 LTD ($n=8$, CP1: $93.4 \pm 2.2\%$, $P < 0.001$ vs. baseline; CP2: $90.1 \pm 2.4\%$, $P < 0.001$ vs. baseline; $P = 0.012$, CP1 vs. CP2 下半部分)。B, 首次吗啡戒断第四天, 易化了海马 LTP/LTD 组合可塑性。双通路条件化作用在 CP1 诱导出了 LTP, 在 CP2 诱导出了 LTD ($n=8$, CP1: $110.3 \pm 2.9\%$, $P < 0.001$ vs. baseline; CP2: $91.3 \pm 2.7\%$, $P < 0.001$ vs. baseline)。C, 三次吗啡戒断第 4 天易化了海马 LTP/LTP 组合可塑性。双通路条件化作用在 CP1 诱导出幅值较大的 LTP, 在 CP2 诱导出幅值较小的 LTP ($n=8$, CP1: $119.6 \pm 3.7\%$, $P < 0.001$ vs. baseline; CP2: $106.1 \pm 2.8\%$, $P < 0.001$ vs. baseline; $P < 0.001$, CP1 vs. CP2)。D, 三次吗啡戒断第 5 天易化了海马 LTP/LTP 组合可塑性。双通路条件化作用在 CP1 诱导出幅值较大的 LTP, 在 CP2 诱导出幅值较小的 LTP ($n=8$, CP1: $118.5 \pm 3.1\%$, $P < 0.001$ vs. baseline; CP2: $104.4 \pm 3.2\%$, $P = 0.011$ vs. baseline; $P < 0.001$, CP1 vs. CP2)。

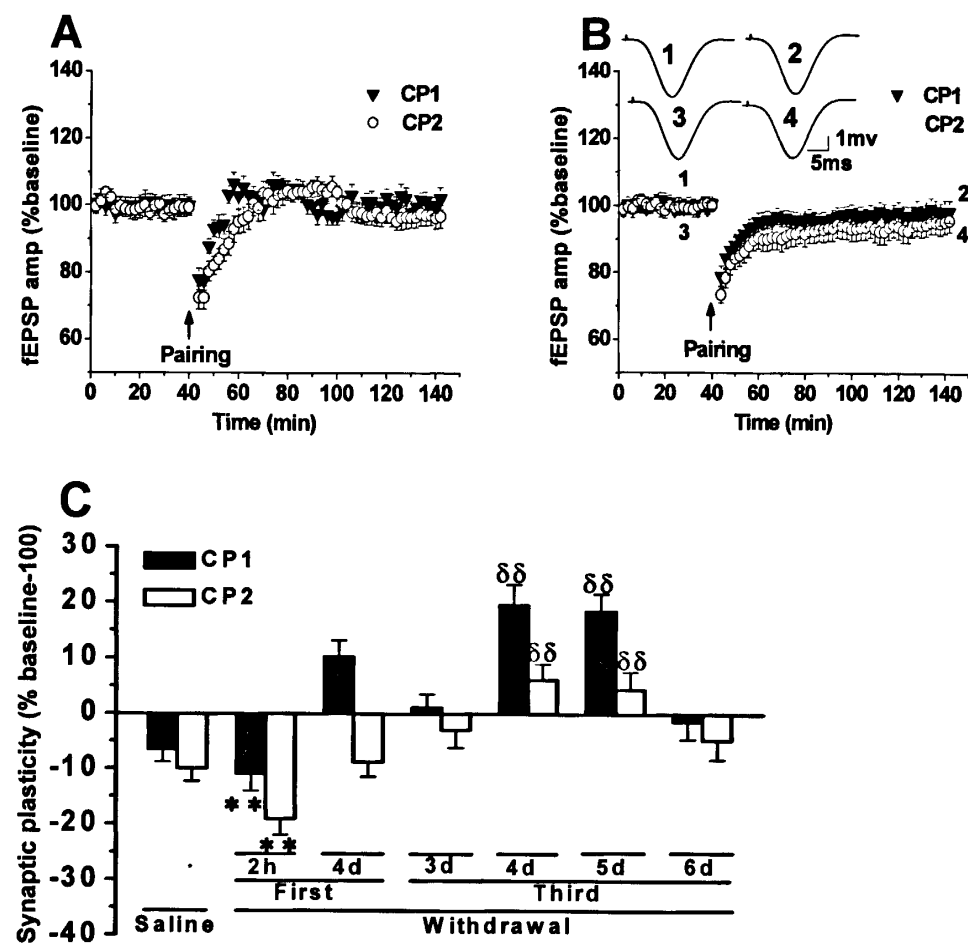


图. 2 关键吗啡戒断时间窗易化了海马 LTP/LTP 组合可塑性。

A, 三次吗啡戒断第 3 天, 在 CP1 通路上有突触效能增强的趋势, 在 CP2 通路上有突触效能抑制的趋势, 但未能诱导出具有统计上显著性意义的海马组合可塑性 ($n = 8$, CP1: $101.1 \pm 2.4\%$, $P = 0.422$ vs. baseline; CP2: $97 \pm 3.2\%$, $P = 0.155$ vs. baseline)。B, 三次吗啡戒断第 6 天, 在 CP1 通路上有突触效能抑制的趋势, 在 CP2 通路上调导出了具有显著性意义的 LTD ($n = 8$, CP1: $98.6 \pm 3.2\%$, $P = 0.312$ vs. baseline; CP2: $95.3 \pm 3.5\%$, $P = 0.007$ vs. baseline)。C, 吗啡戒断易化海马 LTP 仅出现关键戒断时间窗, 单次戒断出现于戒断第四天, 三次戒断出现于戒断第 4, 第 5 天。三次戒断把单次戒断的 LTP/LTD 组合可塑性易化为 LTP/LTP 组合可塑性, 三次戒断第 4, 5 天的 LTP 幅值显著大于一次戒断及未经历戒断的可塑性幅值 ($^{ss}P < 0.001$)。未经历戒断的吗啡处理组 (首次戒断 2h 组) 易化 LTD/LTD 海马组合可塑性, LTD 的幅值显著大于经历戒断各组的 LTD 幅值 ($^{**}P < 0.001$), 与生理盐水组相比 LTD 幅值也有显著增强 (CP1: $P = 0.006$ vs. Saline; CP2: $P < 0.001$ vs. Saline)。

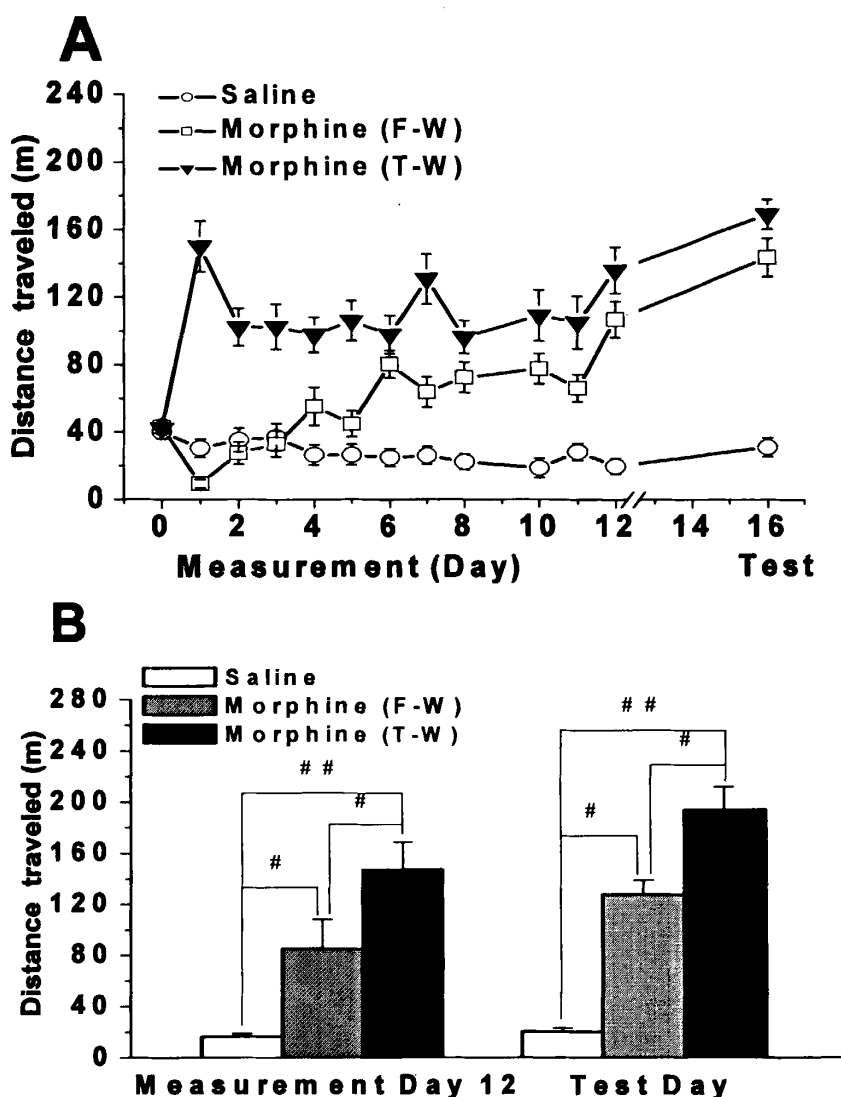


图. 3 反复吗啡戒断增强了运动敏感化

A, 在运动敏感化形成期, 经历过戒断吗啡处理组大鼠 (三次吗啡戒断组, Morphine(T-W)) 的自发活动多于未经历过戒断的吗啡处理组 (首次吗啡戒断组, Morphine(F-W)) 及生理盐水处理组 (Saline)。在运动敏感化表达时, 三次戒断组比首次戒断组表现出更强的运动敏感化。B, 运动敏感化形成期自发活动比较, 以自发活动测试第 12 天为例, 三次戒断组显著多于未经历过戒断的吗啡处理组及生理盐水组 (T-W: $135.8 \pm 13.7\text{m}$, $P < 0.001$ vs. Saline; F-W: $106.7 \pm 10.6\text{m}$, $P < 0.001$ vs. Saline; $P < 0.001$ T-W vs. F-W)。运动敏感化表达时, 三次戒断组自发活动显著多于一次戒断及生理盐水组 (T-W: $168.9 \pm 8.7\text{m}$, $P < 0.001$ vs. Saline; F-W: $143.4 \pm 11.4\text{m}$, $P < 0.001$ vs. Saline; $P < 0.001$ T-W vs. F-W)。

4. 讨论

我们的实验结果显示吗啡戒断易化了 LTP, 反复戒断则增强了对 LTP 的易化效应, 表现为延长了易化 LTP 的时间, 增强了 LTP 易化的幅值。戒断在易化 LTP 的同时, 也表现出运动敏感化增强, 提示了更强的药物渴求及觅药行为。戒断易化 LTP 效应具有时间依赖性, 有一关键戒断时间窗, 如能终止 LTP 的易化效应可能会减少复吸的发生。如不能有效治疗, 戒断易化 LTP 效应可能会导致越戒难治疗的局面。

戒断与海马依赖的成瘾记忆

我们的实验结果显示在吗啡依赖/耐受-戒断及再戒断的过程中, 未经历戒断的慢性吗啡处理, 易化了海马 LTD, 结合前期的实验结果, 增强的 LTD 的幅值随着戒断又渐变小, 显示了增强的 LTD 恢复的过程。首次戒断出现了 LTP/LTD 组合可塑性, 反复戒断则出现了 LTP/LTP 组合可塑性, 反复戒断使得易化的 LTP 更强更持久。我们认为海马可塑性的变化有成瘾相关的神经适应 (Neuroadaptations) 的成分, 如: 在未经历戒断的慢性吗啡处理组易化了 LTD, 戒断后暴露了与依赖/耐受相应的神经适应, 并启动了自稳态神经适应 (Homeostatic neuroadaptations) 的恢复过程 (Hyman et al., 2006), 所以增强的 LTD 逐渐变小, 戒断后的自稳态调节可能会使增强的 LTD 回归到 Control 的水平, 但戒断关键期的 LTD 向 LTP 的逆转说明了其它机制参与了海马可塑性的变化。我们认为海马关联的学习记忆促成了戒断易化海马 LTP。在负性强化理论中, 戒断的负性体验可以作为非条件刺激与环境线索建立联合型学习 (Wikler and Pescor, 1967), 海马是负责环境信息编码的关键脑区 (Morris et al., 1986; Tsien et al., 1996; Martin et al., 2005), 而且对事件发生空间背景的学习与记忆有关键作用 (Eichenbaum et al., 2007), 因此戒断体验-环境的联合型学习可能推动了戒断易化 LTP。此外, 当经历了再次戒断时, 再次戒断的体验 (可能与上次戒断的体验不完全相同) 可能与环境建立新的联合型学习, 而既往的戒断记忆也可能由于环境的提取而得以再巩固 (Dudai and Eisenberg, 2004; Nader and Hardt, 2009), 因而反复戒断增强了戒断对 LTP 的易化效应, 使得易化的 LTP 更强更持久。

既往研究证实药理损毁海马后, 自身给药环境则不能激发实验动物的复吸行为 (Fuchs et al., 2005), 当形成可卡因 CPP 时, 在海马出现了与 LTP 诱导相关基因的表达增加 (Krasnova et al., 2008), 上述研究表明了海马在环境线索-奖赏效应的联合型学习中有关键作用, 参与了奖赏相关的成瘾记忆。我们的结果提示了戒断可能形成了海马依赖的戒断记忆, 反复戒断使得海马原来的戒断记忆更牢固。我们的结果初步提示了海马在环境线索-戒断状态的联合型学习中有关键作用,

参与了戒断体验相关的成瘾记忆。当然戒断是基于依赖/耐受时期的神经适应性改变, DA 系统在成瘾的形成发展起了关键作用, 而且应激、条件化线索及药物能激发经过熄灭程序实验动物的再度觅药行为, 然而戒断本身不能激发再度觅药行为(Hyman et al., 2006)。然而 Hellemans, Dickinson & Everitt (2006) 证实纳洛酮激发的戒断相关联的条件化刺激抑制了海洛因觅药行为, 但是当该条件化刺激曾与海洛因用药行为有联系时, 则能增加觅药行为, 即习得了给药能摆脱戒断体验后, 戒断相关联的条件化刺激就能增加觅药行为, 充分符合了负性强化假说。也有观点认为在戒断症状消退后的很长时间, 仍会复吸, 所以戒断对成瘾机制的贡献不大。我们认为由于戒断状态-环境线索的联合型学习, 当戒断症状消退很长一段时间后, 戒断关联的成瘾记忆可能被戒断体验相关线索提取而出现条件化戒断状态, 从而激发觅药行为。然而, 我们的结果显示, 在关键戒断时间窗至少产生了海马关联的学习记忆。所以, 正性强化和负性强化、成瘾关联的学习记忆机制、动机敏感化机制以及神经内稳态适应性调节等可能共同参与了成瘾的发生发展, 只是在不同成瘾阶段, 不同条件下, 可能某种机制显得比较突出。

戒断与运动敏感化

我们的实验结果显示反复戒断后易化了 LTP, 结合记忆再巩固理论, 我们认为反复戒断后海马依赖的戒断记忆更稳固, 因而实验动物会出现强烈的觅药动机, 驱使动物获取成瘾物质来避免戒断时的负性体验(Wikler, 1973; Solomon, 1980; Koob et al., 1989; Schulteis et al., 2000)。此外, 也有研究者提出了戒断期间的动机学习理论, 认为戒断期间的动机学习, 可增强再次戒断时的觅药行为(Hutcheson et al., 2001), 相关独立实验也证实了戒断学习期间在 VTA、Nac 以及海马等中脑-边缘叶区域的 fos 表达增加(Frenois et al., 2005), 这些既往的研究结果与我们目前的结果都不矛盾。因而反复戒断的实验动物出现觅药动机增强, 自发活动增多, 运动敏感化更明显, 而增强的戒断记忆可能是运动敏感化的内在机制之一。反而言之, 运动敏感化的实验结果也提示了戒断学习形成的戒断记忆, 能增强实验动物的觅药动机, 表现出觅药行为增多, 增加了引发复吸的可能。

戒断与成瘾治疗

近来有研究报道, 长期戒断可使 GluR1 在 Nac 表达增加, 形成了 GluR2-lacking AMPAR, 并证实 GluR1 表达增加与实验动物的觅药行为增加有关联, 提出了 GluR1 可能成为成瘾治疗新的靶点(Conrad et al., 2008)。也有报道 CaMKII 是 Nac 区域 Glu 机制及 DA 机制增强动物觅药行为的桥梁(Anderson et al., 2008)。以上研究一方面说明了戒断过程中产生了生化变化可能导致复吸的内在机制, 也说明了与学习记忆密切相关的 Glu 机制既是成瘾重要的内在机制, 也是

治疗成瘾的新希望。我们研究发现在吗啡关键戒断时间窗，海马 LTP 得以诱导，提示了通过干扰海马关键时间窗内可塑性的变化，可能有助于减少海马关联的戒断记忆相关的复吸行为的发生。我们的研究还发现反复戒断增强了戒断对海马 LTP 的易化作用，这也给了我们新的启示，如果一次戒毒不成功，反复戒毒，反复戒断可能会使成瘾记忆更加牢固，出现越戒越难治疗的局面，因此首次戒毒的成功与否可能关系着最终的戒毒能否顺利成功。

三、结论与展望

随着对成瘾行为的深入研究,成瘾的学习记忆假说逐渐被认可与接受。事实上,正性强化理论所看重的奖赏学习及其条件化线索的强化效应,负性强化关注的负性体验条件化作用,动机敏感化理论中线索动机凸显等都需要学习与记忆的理论来提供相应的解释。目前认为学习记忆相关的谷氨酸机制与奖赏相关的多巴胺机制,协同其它影响因素共同构成了成瘾发生发展的内在机制。海马在成瘾事件的环境信息编码中的作用是无可质疑的,因而环境线索相关的成瘾记忆与海马的活动密切相关。海马可塑性是海马相关学习记忆的细胞分子基础,我们通过研究海马组合可塑性变化,发现吗啡戒断易化了海马 LTP,吗啡反复戒断增强了对海马 LTP 易化作用,提示环境线索-戒断状态的联合型学习可能促成了对海马 LTP 易化作用,也可能形成了稳固的海马依赖的戒断记忆,为条件化环境线索导致觅药行为及复吸的负性强化假说提供了可能的细胞机制。行为敏感化结果也证实反复戒断后自发活动增多,提示觅药动机增强。我们的结论也从另外的角度反映了首次成瘾治疗的重要性,否则反复戒断增强海马易化 LTP 的效应,可能会出现越戒越难治的局面。我们的研究结果也提示,通过调控关键戒断时间窗内的可塑性变化,可能会实现对成瘾记忆的干扰,从而为治疗复吸顽症提供新思路。

另外,我们运用海马 Schaffer-CA1 双通路技术,通过双通路条件化作用,诱导了海马组合可塑性,实现了对双通路条件下海马组合可塑性分布的研究。我们发现双通路条件下出现了所有四种突触可塑性组合即 LTD/LTD, LTP/LTD, LTD/LTP, LTP/LTP。假如更多的通路呢,是否会出现更多的 LTP 与 LTD 的组合?于是我们认为在不同学习记忆阶段,同时又会受到 Metaplasticity, Homeostatic plasticity 以及 Heterosynaptic plasticity 等机制的调节,不同突触可能处于不同的生理状态之下。因此我们认为一旦事件发生,启动海马关联的学习记忆时,相关的突触状态不可能处于统一的一种状态,于是可能会出现形形色色的 LTP, LTD 的组合。海马可能是以不同形式的 LTP, LTD 的组合,犹如数字“0”和“1”一般编码信息,并联合突触效能的变化,来共同完成信息的编码与加工。当然如何能进一步印证,并实现与具体的学习与记忆过程及功能挂钩,这一切在目前看来还显得任重而道远。

四、参考文献

- Abbott LF, Nelson SB (2000) Synaptic plasticity: taming the beast. *Nat Neurosci* 3 Suppl:1178-1183.
- Abbott LF, Regehr WG (2004) Synaptic computation. *Nature* 431:796-803.
- Abraham WC (2003) How long will long-term potentiation last? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 358:735-744.
- Abraham WC, Bear MF (1996) Metaplasticity: the plasticity of synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 19:126-130.
- Abraham WC, Williams JM (2003) Properties and mechanisms of LTP maintenance. *Neuroscientist* 9:463-474.
- Abraham WC, Robins A (2005) Memory retention--the synaptic stability versus plasticity dilemma. *Trends Neurosci* 28:73-78.
- Abraham WC, Bliss TV, Goddard GV (1985) Heterosynaptic changes accompany long-term but not short-term potentiation of the perforant path in the anaesthetized rat. *J Physiol* 363:335-349.
- Abraham WC, Logan B, Greenwood JM, Dragunow M (2002) Induction and experience-dependent consolidation of stable long-term potentiation lasting months in the hippocampus. *J Neurosci* 22:9626-9634.
- Adler J (1966) Chemotaxis in bacteria. *Science* 153:708-716.
- Ahmed SH, Walker JR, Koob GF (2000) Persistent increase in the motivation to take heroin in rats with a history of drug escalation. *Neuropsychopharmacology* 22:413-421.
- Alvarado MC, Bachevalier J (2005) Comparison of the effects of damage to the perirhinal and parahippocampal cortex on transverse patterning and location memory in rhesus macaques. *J Neurosci* 25:1599-1609.
- Andersen P, Sundberg SH, Sveen O, Swann JW, Wigstrom H (1980) Possible mechanisms for long-lasting potentiation of synaptic transmission in hippocampal slices from guinea-pigs. *J Physiol* 302:463-482.
- Anderson SM, Bari AA, Pierce RC (2003) Administration of the D1-like dopamine receptor antagonist SCH-23390 into the medial nucleus accumbens shell attenuates cocaine priming-induced reinstatement of drug-seeking behavior in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 168:132-138.
- Anderson SM, Famous KR, Sadri-Vakili G, Kumaresan V, Schmidt HD, Bass CE, Terwilliger EF, Cha JH, Pierce RC (2008) CaMKII: a biochemical bridge linking accumbens dopamine and glutamate systems in cocaine seeking. *Nat Neurosci* 11:344-353.
- Attwell PJ, Cooke SF, Yeo CH (2002) Cerebellar function in consolidation of a motor memory. *Neuron* 34:1011-1020.
- Bachtell RK, Whisler K, Karanian D, Self DW (2005) Effects of intra-nucleus accumbens shell administration of dopamine agonists and antagonists on cocaine-taking and cocaine-seeking behaviors in the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 183:41-53.

- Bailey CH, Giustetto M, Huang YY, Hawkins RD, Kandel ER (2000) Is heterosynaptic modulation essential for stabilizing Hebbian plasticity and memory? *Nat Rev Neurosci* 1:11-20.
- Baldwin AE, Sadeghian K, Kelley AE (2002) Appetitive instrumental learning requires coincident activation of NMDA and dopamine D1 receptors within the medial prefrontal cortex. *J Neurosci* 22:1063-1071.
- Bardo MT, Bevins RA (2000) Conditioned place preference: what does it add to our preclinical understanding of drug reward? *Psychopharmacology (Berl)* 153:31-43.
- Barria A, Muller D, Derkach V, Griffith LC, Soderling TR (1997) Regulatory phosphorylation of AMPA-type glutamate receptors by CaM-KII during long-term potentiation. *Science* 276:2042-2045.
- Barrionuevo G, Schottler F, Lynch G (1980) The effects of repetitive low frequency stimulation on control and "potentiated" synaptic responses in the hippocampus. *Life Sci* 27:2385-2391.
- Bear MF (2003) Bidirectional synaptic plasticity: from theory to reality. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 358:649-655.
- Bear MF, Abraham WC (1996) Long-term depression in hippocampus. *Annu Rev Neurosci* 19:437-462.
- Beattie EC, Carroll RC, Yu X, Morishita W, Yasuda H, von Zastrow M, Malenka RC (2000) Regulation of AMPA receptor endocytosis by a signaling mechanism shared with LTD. *Nat Neurosci* 3:1291-1300.
- Bender VA, Bender KJ, Brasier DJ, Feldman DE (2006) Two coincidence detectors for spike timing-dependent plasticity in somatosensory cortex. *J Neurosci* 26:4166-4177.
- Beninger RJ, Miller R (1998) Dopamine D1-like receptors and reward-related incentive learning. *Neurosci Biobehav Rev* 22:335-345.
- Berger TW, Rinaldi PC, Weisz DJ, Thompson RF (1983) Single-unit analysis of different hippocampal cell types during classical conditioning of rabbit nictitating membrane response. *J Neurophysiol* 50:1197-1219.
- Berke JD, Hyman SE (2000) Addiction, dopamine, and the molecular mechanisms of memory. *Neuron* 25:515-532.
- Berridge KC, Robinson TE (2003) Parsing reward. *Trends Neurosci* 26:507-513.
- Bi G, Poo M (2001) Synaptic modification by correlated activity: Hebb's postulate revisited. *Annu Rev Neurosci* 24:139-166.
- Bi GQ, Poo MM (1998) Synaptic modifications in cultured hippocampal neurons: dependence on spike timing, synaptic strength, and postsynaptic cell type. *J Neurosci* 18:10464-10472.
- Bienenstock EL, Cooper LN, Munro PW (1982) Theory for the development of neuron selectivity: orientation specificity and binocular interaction in visual cortex. *J Neurosci* 2:32-48.
- Bliss TV, Gardner-Medwin AR (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* 232:357-374.

- Bliss TV, Lomo T (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* 232:331-356.
- Bliss TV, Collingridge GL (1993) A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361:31-39.
- Blitzer RD, Connor JH, Brown GP, Wong T, Shenolikar S, Iyengar R, Landau EM (1998) Gating of CaMKII by cAMP-regulated protein phosphatase activity during LTP. *Science* 280:1940-1942.
- Boehm J, Kang MG, Johnson RC, Esteban J, Hugarir RL, Malinow R (2006) Synaptic incorporation of AMPA receptors during LTP is controlled by a PKC phosphorylation site on GluR1. *Neuron* 51:213-225.
- Bramham CR, Messaoudi E (2005) BDNF function in adult synaptic plasticity: the synaptic consolidation hypothesis. *Prog Neurobiol* 76:99-125.
- Brebner K, Wong TP, Liu L, Liu Y, Campsall P, Gray S, Phelps L, Phillips AG, Wang YT (2005) Nucleus accumbens long-term depression and the expression of behavioral sensitization. *Science* 310:1340-1343.
- Bredt DS, Nicoll RA (2003) AMPA receptor trafficking at excitatory synapses. *Neuron* 40:361-379.
- Burns LH, Robbins TW, Everitt BJ (1993) Differential effects of excitotoxic lesions of the basolateral amygdala, ventral subiculum and medial prefrontal cortex on responding with conditioned reinforcement and locomotor activity potentiated by intra-accumbens infusions of D-amphetamine. *Behav Brain Res* 55:167-183.
- Burwell RD (2000) The parahippocampal region: corticocortical connectivity. *Ann N Y Acad Sci* 911:25-42.
- Caine SB, Humby T, Robbins TW, Everitt BJ (2001) Behavioral effects of psychomotor stimulants in rats with dorsal or ventral subiculum lesions: locomotion, cocaine self-administration, and prepulse inhibition of startle. *Behav Neurosci* 115:880-894.
- Caporale N, Dan Y (2008) Spike timing-dependent plasticity: a Hebbian learning rule. *Annu Rev Neurosci* 31:25-46.
- Cardinal RN, Parkinson JA, Hall J, Everitt BJ (2002) Emotion and motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neurosci Biobehav Rev* 26:321-352.
- Carlezon WA, Jr., Nestler EJ (2002) Elevated levels of GluR1 in the midbrain: a trigger for sensitization to drugs of abuse? *Trends Neurosci* 25:610-615.
- Carlezon WA, Jr., Boundy VA, Haile CN, Lane SB, Kalb RG, Neve RL, Nestler EJ (1997) Sensitization to morphine induced by viral-mediated gene transfer. *Science* 277:812-814.
- Carroll RC, Beattie EC, von Zastrow M, Malenka RC (2001) Role of AMPA receptor endocytosis in synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci* 2:315-324.
- Cash S, Yuste R (1998) Input summation by cultured pyramidal neurons is linear and position-independent. *J Neurosci* 18:10-15.
- Cepeda C, Buchwald NA, Levine MS (1993) Neuromodulatory actions of dopamine

- in the neostriatum are dependent upon the excitatory amino acid receptor subtypes activated. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:9576-9580.
- Cepeda C, Colwell CS, Itri JN, Gruen E, Levine MS (1998) Dopaminergic modulation of early signs of excitotoxicity in visualized rat neostriatal neurons. *Eur J Neurosci* 10:3491-3497.
- Chao SZ, Ariano MA, Peterson DA, Wolf ME (2002) D1 dopamine receptor stimulation increases GluR1 surface expression in nucleus accumbens neurons. *J Neurochem* 83:704-712.
- Chen L, Chetkovich DM, Petralia RS, Sweeney NT, Kawasaki Y, Wenthold RJ, Brecht DS, Nicoll RA (2000) Stargazin regulates synaptic targeting of AMPA receptors by two distinct mechanisms. *Nature* 408:936-943.
- Chevalere V, Takahashi KA, Castillo PE (2006) Endocannabinoid-mediated synaptic plasticity in the CNS. *Annu Rev Neurosci* 29:37-76.
- Childress AR, Hole AV, Ehrman RN, Robbins SJ, McLellan AT, O'Brien CP (1993) Cue reactivity and cue reactivity interventions in drug dependence. *NIDA Res Monogr* 137:73-95.
- Childress AR, Mozley PD, McElgin W, Fitzgerald J, Reivich M, O'Brien CP (1999) Limbic activation during cue-induced cocaine craving. *Am J Psychiatry* 156:11-18.
- Citri A, Malenka RC (2008) Synaptic plasticity: multiple forms, functions, and mechanisms. *Neuropsychopharmacology* 33:18-41.
- Collingridge GL, Isaac JT, Wang YT (2004) Receptor trafficking and synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci* 5:952-962.
- Conrad KL, Tseng KY, Uejima JL, Reimers JM, Heng LJ, Shaham Y, Marinelli M, Wolf ME (2008) Formation of accumbens GluR2-lacking AMPA receptors mediates incubation of cocaine craving. *Nature* 454:118-121.
- Crombag HS, Shaham Y (2002) Renewal of drug seeking by contextual cues after prolonged extinction in rats. *Behav Neurosci* 116:169-173.
- Crombag HS, Bossert JM, Koya E, Shaham Y (2008) Review. Context-induced relapse to drug seeking: a review. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 363:3233-3243.
- Cui Z, Wang H, Tan Y, Zaia KA, Zhang S, Tsien JZ (2004) Inducible and reversible NR1 knockout reveals crucial role of the NMDA receptor in preserving remote memories in the brain. *Neuron* 41:781-793.
- Dalley JW, Laane K, Theobald DE, Armstrong HC, Corlett PR, Chudasama Y, Robbins TW (2005) Time-limited modulation of appetitive Pavlovian memory by D1 and NMDA receptors in the nucleus accumbens. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:6189-6194.
- Dan Y, Poo MM (2004) Spike timing-dependent plasticity of neural circuits. *Neuron* 44:23-30.
- Das S, Grunert M, Williams L, Vincent SR (1997) NMDA and D1 receptors regulate the phosphorylation of CREB and the induction of c-fos in striatal neurons in primary culture. *Synapse* 25:227-233.
- Davis GW (2006) Homeostatic control of neural activity: from phenomenology to

- molecular design. *Annu Rev Neurosci* 29:307-323.
- Dayan P, Willshaw DJ (1991) Optimising synaptic learning rules in linear associative memories. *Biol Cybern* 65:253-265.
- De Vries TJ, Schoffelmeer AN, Binnekade R, Mulder AH, Vanderschuren LJ (1998) Drug-induced reinstatement of heroin- and cocaine-seeking behaviour following long-term extinction is associated with expression of behavioural sensitization. *Eur J Neurosci* 10:3565-3571.
- Debiec J, LeDoux JE, Nader K (2002) Cellular and systems reconsolidation in the hippocampus. *Neuron* 36:527-538.
- Derkach V, Barria A, Soderling TR (1999) Ca^{2+} /calmodulin-kinase II enhances channel conductance of α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate type glutamate receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:3269-3274.
- Derkach VA, Oh MC, Guire ES, Soderling TR (2007) Regulatory mechanisms of AMPA receptors in synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci* 8:101-113.
- Di Ciano P, Cardinal RN, Cowell RA, Little SJ, Everitt BJ (2001) Differential involvement of NMDA, AMPA/kainate, and dopamine receptors in the nucleus accumbens core in the acquisition and performance of pavlovian approach behavior. *J Neurosci* 21:9471-9477.
- Dong Y, Saal D, Thomas M, Faust R, Bonci A, Robinson T, Malenka RC (2004) Cocaine-induced potentiation of synaptic strength in dopamine neurons: behavioral correlates in $\text{GluRA}(-/-)$ mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:14282-14287.
- Dong Z, Han H, Cao J, Zhang X, Xu L (2008) Coincident activity of converging pathways enables simultaneous long-term potentiation and long-term depression in hippocampal CA1 network in vivo. *PLoS ONE* 3:e2848.
- Dong Z, Zhong W, Tian M, Han H, Cao J, Xu T, Luo J, Xu L (2006) Stress evoked by opiate withdrawal facilitates hippocampal LTP in vivo. *Hippocampus* 16:1017-1025.
- Doyere V, Debiec J, Monfils MH, Schafe GE, LeDoux JE (2007) Synapse-specific reconsolidation of distinct fear memories in the lateral amygdala. *Nat Neurosci* 10:414-416.
- Dudai Y (1996) Consolidation: fragility on the road to the engram. *Neuron* 17:367-370.
- Dudai Y, Eisenberg M (2004) Rites of passage of the engram: reconsolidation and the lingering consolidation hypothesis. *Neuron* 44:93-100.
- Dudek SM, Bear MF (1992) Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:4363-4367.
- Dudek SM, Bear MF (1993) Bidirectional long-term modification of synaptic effectiveness in the adult and immature hippocampus. *J Neurosci* 13:2910-2918.
- Dudman JT, Tsay D, Siegelbaum SA (2007) A role for synaptic inputs at distal dendrites: instructive signals for hippocampal long-term plasticity. *Neuron*

56:866-879.

- Ehlers MD (2000) Reinsertion or degradation of AMPA receptors determined by activity-dependent endocytic sorting. *Neuron* 28:511-525.
- Ehrlich I, Malinow R (2004) Postsynaptic density 95 controls AMPA receptor incorporation during long-term potentiation and experience-driven synaptic plasticity. *J Neurosci* 24:916-927.
- Eichenbaum H (2004) Hippocampus: cognitive processes and neural representations that underlie declarative memory. *Neuron* 44:109-120.
- Eichenbaum H, Yonelinas AP, Ranganath C (2007) The medial temporal lobe and recognition memory. *Annu Rev Neurosci* 30:123-152.
- Esteban JA, Shi SH, Wilson C, Nuriya M, Huganir RL, Malinow R (2003) PKA phosphorylation of AMPA receptor subunits controls synaptic trafficking underlying plasticity. *Nat Neurosci* 6:136-143.
- Everitt BJ, Robbins TW (2005) Neural systems of reinforcement for drug addiction: from actions to habits to compulsion. *Nat Neurosci* 8:1481-1489.
- Floyd NS, Price JL, Ferry AT, Keay KA, Bandler R (2001) Orbitomedial prefrontal cortical projections to hypothalamus in the rat. *J Comp Neurol* 432:307-328.
- Fonseca R, Nagerl UV, Bonhoeffer T (2006) Neuronal activity determines the protein synthesis dependence of long-term potentiation. *Nat Neurosci* 9:478-480.
- Frankland PW, Bontempi B (2005) The organization of recent and remote memories. *Nat Rev Neurosci* 6:119-130.
- Frenois F, Stinus L, Di Blasi F, Cador M, Le Moine C (2005) A specific limbic circuit underlies opiate withdrawal memories. *J Neurosci* 25:1366-1374.
- Fuchs RA, Evans KA, Ledford CC, Parker MP, Case JM, Mehta RH, See RE (2005) The role of the dorsomedial prefrontal cortex, basolateral amygdala, and dorsal hippocampus in contextual reinstatement of cocaine seeking in rats. *Neuropsychopharmacology* 30: 296-309.
- Fukunaga K, Muller D, Miyamoto E (1995) Increased phosphorylation of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II and its endogenous substrates in the induction of long-term potentiation. *J Biol Chem* 270:6119-6124.
- Gabrieli JD, Brewer JB, Desmond JE, Glover GH (1997) Separate neural bases of two fundamental memory processes in the human medial temporal lobe. *Science* 276:264-266.
- Gaffan EA, Healey AN, Eacott MJ (2004) Objects and positions in visual scenes: effects of perirhinal and postrhinal cortex lesions in the rat. *Behav Neurosci* 118:992-1010.
- Gasbarri A, Packard MG, Campana E, Pacitti C (1994) Anterograde and retrograde tracing of projections from the ventral tegmental area to the hippocampal formation in the rat. *Brain Res Bull* 33:445-452.
- Giese KP, Fedorov NB, Filipkowski RK, Silva AJ (1998) Autophosphorylation at Thr286 of the alpha calcium-calmodulin kinase II in LTP and learning. *Science* 279:870-873.
- Gomez LL, Alam S, Smith KE, Horne E, Dell'Acqua ML (2002) Regulation of A-kinase anchoring protein 79/150-cAMP-dependent protein kinase

- postsynaptic targeting by NMDA receptor activation of calcineurin and remodeling of dendritic actin. *J Neurosci* 22:7027-7044.
- Goto Y, O'Donnell P (2001) Synchronous activity in the hippocampus and nucleus accumbens in vivo. *J Neurosci* 21:RC131.
- Goto Y, O'Donnell P (2002) Timing-dependent limbic-motor synaptic integration in the nucleus accumbens. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:13189-13193.
- Grant S, London ED, Newlin DB, Villemagne VL, Liu X, Contoreggi C, Phillips RL, Kimes AS, Margolin A (1996) Activation of memory circuits during cue-elicited cocaine craving. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:12040-12045.
- Greengard P, Allen PB, Nairn AC (1999) Beyond the dopamine receptor: the DARPP-32/protein phosphatase-1 cascade. *Neuron* 23:435-447.
- Greengard P, Nairn AC, Girault JA, Ouimet CC, Snyder GL, Fisone G, Allen PB, Fienberg A, Nishi A (1998) The DARPP-32/protein phosphatase-1 cascade: a model for signal integration. *Brain Res Brain Res Rev* 26:274-284.
- Groenewegen HJ, Wright CI, Beijer AV (1996) The nucleus accumbens: gateway for limbic structures to reach the motor system? *Prog Brain Res* 107:485-511.
- Gurden H, Tassin JP, Jay TM (1999) Integrity of the mesocortical dopaminergic system is necessary for complete expression of in vivo hippocampal-prefrontal cortex long-term potentiation. *Neuroscience* 94:1019-1027.
- Gurden H, Takita M, Jay TM (2000) Essential role of D1 but not D2 receptors in the NMDA receptor-dependent long-term potentiation at hippocampal-prefrontal cortex synapses in vivo. *J Neurosci* 20:RC106.
- Guzowski JF, McGaugh JL (1997) Antisense oligodeoxynucleotide-mediated disruption of hippocampal cAMP response element binding protein levels impairs consolidation of memory for water maze training. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94:2693-2698.
- Hall J, Parkinson JA, Connor TM, Dickinson A, Everitt BJ (2001) Involvement of the central nucleus of the amygdala and nucleus accumbens core in mediating Pavlovian influences on instrumental behaviour. *Eur J Neurosci* 13:1984-1992.
- Harney SC, Rowan M, Anwyl R (2006) Long-term depression of NMDA receptor-mediated synaptic transmission is dependent on activation of metabotropic glutamate receptors and is altered to long-term potentiation by low intracellular calcium buffering. *J Neurosci* 26:1128-1132.
- Harvey J, Lacey MG (1997) A postsynaptic interaction between dopamine D1 and NMDA receptors promotes presynaptic inhibition in the rat nucleus accumbens via adenosine release. *J Neurosci* 17:5271-5280.
- Healy AF, McNamara DS (1996) Verbal learning and memory: does the modal model still work? *Annu Rev Psychol* 47:143-172.
- Hebb DO (1949) *The Organization of Behavior: A Neuropsychological Theory*. New York: Wiley.
- Henke K, Buck A, Weber B, Wieser HG (1997) Human hippocampus establishes associations in memory. *Hippocampus* 7:249-256.
- Hernandez-Lopez S, Bargas J, Surmeier DJ, Reyes A, Galarraga E (1997) D1 receptor activation enhances evoked discharge in neostriatal medium spiny neurons by

- modulating an L-type Ca^{2+} conductance. *J Neurosci* 17:3334-3342.
- Hernandez PJ, Kelley AE (2005) Cracking addiction the second time around: reconsolidation of drug-related memories. *Neuron* 47:772-775.
- Herron CE, Lester RA, Coan EJ, Collingridge GL (1986) Frequency-dependent involvement of NMDA receptors in the hippocampus: a novel synaptic mechanism. *Nature* 322:265-268.
- Holland LL, Wagner JJ (1998) Primed facilitation of homosynaptic long-term depression and depotentiation in rat hippocampus. *J Neurosci* 18:887-894.
- Hrabetova S, Sacktor TC (1996) Bidirectional regulation of protein kinase M zeta in the maintenance of long-term potentiation and long-term depression. *J Neurosci* 16:5324-5333.
- Huang Q, Zhou D, Chase K, Gusella JF, Aronin N, DiFiglia M (1992) Immunohistochemical localization of the D1 dopamine receptor in rat brain reveals its axonal transport, pre- and postsynaptic localization, and prevalence in the basal ganglia, limbic system, and thalamic reticular nucleus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:11988-11992.
- Huang YY, Kandel ER (1995) D1/D5 receptor agonists induce a protein synthesis-dependent late potentiation in the CA1 region of the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:2446-2450.
- Huang YY, Pittenger C, Kandel ER (2004) A form of long-lasting, learning-related synaptic plasticity in the hippocampus induced by heterosynaptic low-frequency pairing. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:859-864.
- Hutcheson DM, Everitt BJ, Robbins TW, Dickinson A (2001) The role of withdrawal in heroin addiction: enhances reward or promotes avoidance? *Nat Neurosci* 4:943-947.
- Hyman SE, Malenka RC, Nestler EJ (2006) Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. *Annu Rev Neurosci* 29:565-598.
- Ito M, Kano M (1982) Long-lasting depression of parallel fiber-Purkinje cell transmission induced by conjunctive stimulation of parallel fibers and climbing fibers in the cerebellar cortex. *Neurosci Lett* 33:253-258.
- Ito R, Robbins TW, Pennartz CM, Everitt BJ (2008) Functional interaction between the hippocampus and nucleus accumbens shell is necessary for the acquisition of appetitive spatial context conditioning. *J Neurosci* 28:6950-6959.
- Ito R, Dalley JW, Howes SR, Robbins TW, Everitt BJ (2000) Dissociation in conditioned dopamine release in the nucleus accumbens core and shell in response to cocaine cues and during cocaine-seeking behavior in rats. *J Neurosci* 20:7489-7495.
- Jay TM, Burette F, Laroche S (1995) NMDA receptor-dependent long-term potentiation in the hippocampal afferent fibre system to the prefrontal cortex in the rat. *Eur J Neurosci* 7:247-250.
- Jay TM, Gurden H, Yamaguchi T (1998) Rapid increase in PKA activity during long-term potentiation in the hippocampal afferent fibre system to the prefrontal cortex in vivo. *Eur J Neurosci* 10:3302-3306.
- Jester JM, Campbell LW, Sejnowski TJ (1995) Associative EPSP-spike potentiation

- induced by pairing orthodromic and antidromic stimulation in rat hippocampal slices. *J Physiol* 484 (Pt 3):689-705.
- Kalia LV, Gingrich JR, Salter MW (2004) Src in synaptic transmission and plasticity. *Oncogene* 23:8007-8016.
- Kalivas PW, Volkow N, Seamans J (2005) Unmanageable motivation in addiction: a pathology in prefrontal-accumbens glutamate transmission. *Neuron* 45:647-650.
- Kameyama K, Lee HK, Bear MF, Huganir RL (1998) Involvement of a postsynaptic protein kinase A substrate in the expression of homosynaptic long-term depression. *Neuron* 21:1163-1175.
- Kandel ER (2001) The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science* 294:1030-1038.
- Kandel ER, Tauc L (1965) Heterosynaptic facilitation in neurones of the abdominal ganglion of *Aplysia depilans*. *J Physiol* 181:1-27.
- Kauer JA, Malenka RC (2007) Synaptic plasticity and addiction. *Nat Rev Neurosci* 8:844-858.
- Kelley AE (2004) Memory and addiction: shared neural circuitry and molecular mechanisms. *Neuron* 44:161-179.
- Kelley AE, Berridge KC (2002) The neuroscience of natural rewards: relevance to addictive drugs. *J Neurosci* 22:3306-3311.
- Kemp A, Manahan-Vaughan D (2007) Hippocampal long-term depression: master or minion in declarative memory processes? *Trends Neurosci* 30:111-118.
- Kim E, Sheng M (2004) PDZ domain proteins of synapses. *Nat Rev Neurosci* 5:771-781.
- Kirkwood A, Bear MF (1994) Homosynaptic long-term depression in the visual cortex. *J Neurosci* 14:3404-3412.
- Kirov SA, Goddard CA, Harris KM (2004) Age-dependence in the homeostatic upregulation of hippocampal dendritic spine number during blocked synaptic transmission. *Neuropharmacology* 47:640-648.
- Kobayashi Y, Ricci A, Amenta F (1994) Autoradiographic localization of dopamine D1-like receptors in the rabbit pulmonary circulation. *Eur J Pharmacol* 253:201-206.
- Konradi C, Leveque JC, Hyman SE (1996) Amphetamine and dopamine-induced immediate early gene expression in striatal neurons depends on postsynaptic NMDA receptors and calcium. *J Neurosci* 16:4231-4239.
- Koob GF, Bloom FE (1988) Cellular and molecular mechanisms of drug dependence. *Science* 242:715-723.
- Koob GF, Heinrichs SC, Menzaghi F, Pich EM, Britton KT (1994) Corticotropin releasing factor, stress and behavior. *Semin Neurosci* 6: 221-229.
- Koob GF, Le Moal M (1997) Drug abuse: hedonic homeostatic dysregulation. *Science* 278: 52-58.
- Koob GF, Le Moal M (2001) Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. *Neuropsychopharmacology* 24: 97-129.
- Koob GF, Le Moal M (2008) Addiction and the brain antireward system. *Annu Rev*

- Psychol 59: 29-53.
- Koob GF, Stinus L, Le Moal M, Bloom FE (1989) Opponent process theory of motivation: neurobiological evidence from studies of opiate dependence. *Neurosci Biobehav Rev* 13:135-140.
- Kornetsky C, Esposito RU (1979) Euphorigenic drugs: effects on the reward pathways of the brain. *Fed Proc* 38: 2473-2476.
- Krasnova IN, Li SM, Wood WH, McCoy MT, Prabhu VV, Becker KG, Katz JL, Cadet JL (2008) Transcriptional responses to reinforcing effects of cocaine in the rat hippocampus and cortex. *Genes Brain Behav* 7:193-202.
- Lattal KM, Abel T (2004) Behavioral impairments caused by injections of the protein synthesis inhibitor anisomycin after contextual retrieval reverse with time. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:4667-4672.
- Lee FJ, Xue S, Pei L, Vukusic B, Chery N, Wang Y, Wang YT, Niznik HB, Yu XM, Liu F (2002) Dual regulation of NMDA receptor functions by direct protein-protein interactions with the dopamine D1 receptor. *Cell* 111:219-230.
- Lee HK, Kameyama K, Huganir RL, Bear MF (1998) NMDA induces long-term synaptic depression and dephosphorylation of the GluR1 subunit of AMPA receptors in hippocampus. *Neuron* 21:1151-1162.
- Lee HK, Barbarosie M, Kameyama K, Bear MF, Huganir RL (2000) Regulation of distinct AMPA receptor phosphorylation sites during bidirectional synaptic plasticity. *Nature* 405:955-959.
- Lee HK, Takamiya K, Han JS, Man H, Kim CH, Rumbaugh G, Yu S, Ding L, He C, Petralia RS, Wenthold RJ, Gallagher M, Huganir RL (2003) Phosphorylation of the AMPA receptor GluR1 subunit is required for synaptic plasticity and retention of spatial memory. *Cell* 112:631-643.
- Lee JL, Everitt BJ, Thomas KL (2004) Independent cellular processes for hippocampal memory consolidation and reconsolidation. *Science* 304:839-843.
- Lee JL, Di Ciano P, Thomas KL, Everitt BJ (2005) Disrupting reconsolidation of drug memories reduces cocaine-seeking behavior. *Neuron* 47:795-801.
- Lemon N, Manahan-Vaughan D (2006) Dopamine D1/D5 receptors gate the acquisition of novel information through hippocampal long-term potentiation and long-term depression. *J Neurosci* 26:7723-7729.
- Levy WB, Steward O (1983) Temporal contiguity requirements for long-term associative potentiation/depression in the hippocampus. *Neuroscience* 8:791-797.
- Li S, Cullen WK, Anwyl R, Rowan MJ (2003) Dopamine-dependent facilitation of LTP induction in hippocampal CA1 by exposure to spatial novelty. *Nat Neurosci* 6:526-531.
- Ling DS, Benardo LS, Serrano PA, Blace N, Kelly MT, Crary JF, Sacktor TC (2002) Protein kinase Mzeta is necessary and sufficient for LTP maintenance. *Nat Neurosci* 5:295-296.
- Lisman J (1989) A mechanism for the Hebb and the anti-Hebb processes underlying learning and memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86:9574-9578.

- Lisman JE, Grace AA (2005) The hippocampal-VTA loop: controlling the entry of information into long-term memory. *Neuron* 46:703-713.
- Liste I, Guerra MJ, Caruncho HJ, Labandeira-Garcia JL (1997) Treadmill running induces striatal Fos expression via NMDA glutamate and dopamine receptors. *Exp Brain Res* 115:458-468.
- Liu L, Wong TP, Pozza MF, Lingenhoehl K, Wang Y, Sheng M, Auberson YP, Wang YT (2004) Role of NMDA receptor subtypes in governing the direction of hippocampal synaptic plasticity. *Science* 304:1021-1024.
- Lledo PM, Hjelmstad GO, Mukherji S, Soderling TR, Malenka RC, Nicoll RA (1995) Calcium/calmodulin-dependent kinase II and long-term potentiation enhance synaptic transmission by the same mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:11175-11179.
- Lu L, Chen H, Su W, Ge X, Yue W, Su F, Ma L (2005) Role of withdrawal in reinstatement of morphine-conditioned place preference. *Psychopharmacology (Berl)* 181:90-100.
- Luscher C, Nicoll RA, Malenka RC, Muller D (2000) Synaptic plasticity and dynamic modulation of the postsynaptic membrane. *Nat Neurosci* 3:545-550.
- Lynch GS, Dunwiddie T, Gribkoff V (1977) Heterosynaptic depression: a postsynaptic correlate of long-term potentiation. *Nature* 266:737-739.
- Lynch MA (2004) Long-term potentiation and memory. *Physiol Rev* 84:87-136.
- Magee JC, Johnston D (1997) A synaptically controlled, associative signal for Hebbian plasticity in hippocampal neurons. *Science* 275:209-213.
- Maguire EA (2001) Neuroimaging, memory and the human hippocampus. *Rev Neurol (Paris)* 157:791-794.
- Makhinson M, Chotiner JK, Watson JB, O'Dell TJ (1999) Adenylyl cyclase activation modulates activity-dependent changes in synaptic strength and Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase II autophosphorylation. *J Neurosci* 19:2500-2510.
- Malenka RC (1991) Postsynaptic factors control the duration of synaptic enhancement in area CA1 of the hippocampus. *Neuron* 6:53-60.
- Malenka RC (2003) The long-term potential of LTP. *Nat Rev Neurosci* 4:923-926.
- Malenka RC, Nicoll RA (1993) NMDA-receptor-dependent synaptic plasticity: multiple forms and mechanisms. *Trends Neurosci* 16:521-527.
- Malenka RC, Nicoll RA (1999) Long-term potentiation--a decade of progress? *Science* 285:1870-1874.
- Malenka RC, Bear MF (2004) LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* 44:5-21.
- Malinow R, Malenka RC (2002) AMPA receptor trafficking and synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci* 25:103-126.
- Malkova L, Mishkin M (2003) One-trial memory for object-place associations after separate lesions of hippocampus and posterior parahippocampal region in the monkey. *J Neurosci* 23:1956-1965.
- Manns JR, Howard MW, Eichenbaum H (2007) Gradual changes in hippocampal activity support remembering the order of events. *Neuron* 56:530-540.

- Maquet P (2001) The role of sleep in learning and memory. *Science* 294:1048-1052.
- Marder E, Goaillard JM (2006) Variability, compensation and homeostasis in neuron and network function. *Nat Rev Neurosci* 7:563-574.
- Maren S (2001) Neurobiology of Pavlovian fear conditioning. *Annu Rev Neurosci* 24:897-931.
- Marr D (1969) A theory of cerebellar cortex. *J Physiol* 202:437-470.
- Martin SJ, Grimwood PD, Morris RG (2000) Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. *Annu Rev Neurosci* 23:649-711.
- Martin SJ, de Hoz L, Morris RG (2005) Retrograde amnesia: neither partial nor complete hippocampal lesions in rats result in preferential sparing of remote spatial memory, even after reminding. *Neuropsychologia* 43:609-624.
- Matsuzaki M, Honkura N, Ellis-Davies GC, Kasai H (2004) Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. *Nature* 429:761-766.
- Mauk MD, Steinmetz JE, Thompson RF (1986) Classical conditioning using stimulation of the inferior olive as the unconditioned stimulus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83:5349-5353.
- McCormick DA, Thompson RF (1984) Cerebellum: essential involvement in the classically conditioned eyelid response. *Science* 223:296-299.
- McGaugh JL (2000) Memory--a century of consolidation. *Science* 287:248-251.
- McGeorge AJ, Faull RL (1989) The organization of the projection from the cerebral cortex to the striatum in the rat. *Neuroscience* 29:503-537.
- McLellan AT, Lewis DC, O'Brien CP, Kleber HD (2000) Drug dependence, a chronic medical illness: implications for treatment, insurance, and outcomes evaluation. *Jama* 284:1689-1695.
- Merlo-Pich E, Lorang M, Yeganeh M, Rodriguez de Fonseca F, Raber J, Koob GF, Weiss F (1995) Increase of extracellular corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity levels in the amygdala of awake rats during restraint stress and ethanol withdrawal as measured by microdialysis. *J Neurosci* 15: 5439-5447.
- Meyers RA, Zavala AR, Speer CM, Neisewander JL (2006) Dorsal hippocampus inhibition disrupts acquisition and expression, but not consolidation, of cocaine conditioned place preference. *Behav Neurosci* 120:401-412.
- Milekic MH, Alberini CM (2002) Temporally graded requirement for protein synthesis following memory reactivation. *Neuron* 36:521-525.
- Miller KD (1996) Synaptic economics: competition and cooperation in synaptic plasticity. *Neuron* 17:371-374.
- Miller CA, Marshall JF (2005) Molecular substrates for retrieval and reconsolidation of cocaine-associated contextual memory. *Neuron* 47:873-884.
- Montague PR, Hyman SE, Cohen JD (2004) Computational roles for dopamine in behavioural control. *Nature* 431:760-767.
- Montgomery JM, Madison DV (2002) State-dependent heterogeneity in synaptic depression between pyramidal cell pairs. *Neuron* 33:765-777.
- Montgomery JM, Zamorano PL, Garner CC (2004) MAGUKs in synapse assembly and function: an emerging view. *Cell Mol Life Sci* 61:911-929.

- Morishita W, Connor JH, Xia H, Quinlan EM, Shenolikar S, Malenka RC (2001) Regulation of synaptic strength by protein phosphatase 1. *Neuron* 32:1133-1148.
- Morishita W, Lu W, Smith GB, Nicoll RA, Bear MF, Malenka RC (2007) Activation of NR2B-containing NMDA receptors is not required for NMDA receptor-dependent long-term depression. *Neuropharmacology* 52:71-76.
- Morris RG (2001) Episodic-like memory in animals: psychological criteria, neural mechanisms and the value of episodic-like tasks to investigate animal models of neurodegenerative disease. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 356:1453-1465.
- Morris RG, Anderson E, Lynch GS, Baudry M (1986) Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature* 319:774-776.
- Morris RG, Moser EI, Riedel G, Martin SJ, Sandin J, Day M, O'Carroll C (2003) Elements of a neurobiological theory of the hippocampus: the role of activity-dependent synaptic plasticity in memory. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 358:773-786.
- Mulkey RM, Malenka RC (1992) Mechanisms underlying induction of homosynaptic long-term depression in area CA1 of the hippocampus. *Neuron* 9:967-975.
- Mulkey RM, Herron CE, Malenka RC (1993) An essential role for protein phosphatases in hippocampal long-term depression. *Science* 261:1051-1055.
- Mulkey RM, Endo S, Shenolikar S, Malenka RC (1994) Involvement of a calcineurin/inhibitor-1 phosphatase cascade in hippocampal long-term depression. *Nature* 369:486-488.
- Myers KM, Davis M (2002) Systems-level reconsolidation: reengagement of the hippocampus with memory reactivation. *Neuron* 36:340-343.
- Nader K (2003) Memory traces unbound. *Trends Neurosci* 26:65-72.
- Nader K, Hardt O (2009) A single standard for memory: the case for reconsolidation. *Nat Rev Neurosci* 10:224-234.
- Nader K, Schafe GE, Le Doux JE (2000) Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature* 406:722-726.
- Nestler EJ, Aghajanian GK (1997) Molecular and cellular basis of addiction. *Science* 278:58-63.
- Nestler, EJ (2008) Transcriptional mechanisms of addiction: role of Δ FosB. *Philos Trans R Soc Lond B Bio Sci* 363:3245-3255.
- Neves G, Cooke SF, Bliss TV (2008) Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: a neural network approach to causality. *Nat Rev Neurosci* 9:65-75.
- Nevian T, Sakmann B (2006) Spine Ca^{2+} signaling in spike-timing-dependent plasticity. *J Neurosci* 26:11001-11013.
- Nicoll RA, Kauer JA, Malenka RC (1988) The current excitement in long-term potentiation. *Neuron* 1:97-103.
- Nicoll RA, Tomita S, Brecht DS (2006) Auxiliary subunits assist AMPA-type glutamate receptors. *Science* 311:1253-1256.

- Nishiyama M, Hong K, Mikoshiba K, Poo MM, Kato K (2000) Calcium stores regulate the polarity and input specificity of synaptic modification. *Nature* 408:584-588.
- Norman G, Eacott MJ (2005) Dissociable effects of lesions to the perirhinal cortex and the postrhinal cortex on memory for context and objects in rats. *Behav Neurosci* 119:557-566.
- O'Brien CP, Childress AR, Ehrman R, Robbins SJ (1998) Conditioning factors in drug abuse: can they explain compulsion? *J Psychopharmacol* 12:15-22.
- O'Carroll CM, Martin SJ, Sandin J, Frenguelli B, Morris RG (2006) Dopaminergic modulation of the persistence of one-trial hippocampus-dependent memory. *Learn Mem* 13:760-769.
- O'Doherty J, Dayan P, Schultz J, Deichmann R, Friston K, Dolan RJ (2004) Dissociable roles of ventral and dorsal striatum in instrumental conditioning. *Science* 304:452-454.
- O'Keefe J (1993) Hippocampus, theta, and spatial memory. *Curr Opin Neurobiol* 3:917-924.
- Oh MC, Derkach VA (2005) Dominant role of the GluR2 subunit in regulation of AMPA receptors by CaMKII. *Nat Neurosci* 8:853-854.
- Olive MF, Koenig HN, Nannini MA, Hodge CW (2002) Elevated extracellular CRF levels in the bed nucleus of the stria terminalis during ethanol withdrawal and reduction by subsequent ethanol intake. *Pharmacol Biochem Behav* 72: 213-220.
- Pacheco-Cano MT, Bargas J, Hernandez-Lopez S, Tapia D, Galarraga E (1996) Inhibitory action of dopamine involves a subthreshold Cs(+)-sensitive conductance in neostriatal neurons. *Exp Brain Res* 110:205-211.
- Park M, Penick EC, Edwards JG, Kauer JA, Ehlers MD (2004) Recycling endosomes supply AMPA receptors for LTP. *Science* 305:1972-1975.
- Parkinson JA, Olmstead MC, Burns LH, Robbins TW, Everitt BJ (1999) Dissociation in effects of lesions of the nucleus accumbens core and shell on appetitive pavlovian approach behavior and the potentiation of conditioned reinforcement and locomotor activity by D-amphetamine. *J Neurosci* 19:2401-2411.
- Parkinson JA, Dalley JW, Cardinal RN, Bamford A, Fehnert B, Lachenal G, Rudarakanchana N, Halkerston KM, Robbins TW, Everitt BJ (2002) Nucleus accumbens dopamine depletion impairs both acquisition and performance of appetitive Pavlovian approach behaviour: implications for mesoaccumbens dopamine function. *Behav Brain Res* 137:149-163.
- Pastalkova E, Serrano P, Pinkhasova D, Wallace E, Fenton AA, Sacktor TC (2006) Storage of spatial information by the maintenance mechanism of LTP. *Science* 313:1141-1144.
- Paterson NE, Myers C, Markou A (2000) Effects of repeated withdrawal from continuous amphetamine administration on brain reward function in rats. *Psychopharmacology* 152: 440-446.
- Paulson PE, Camp DM, Robinson TE (1991) Time course of transient behavioral

- depression and persistent behavioral sensitization in relation to regional brain monoamine concentrations during amphetamine withdrawal in rats. *Psychopharmacology* (Berl) 103:480-492.
- Pavlov I (1927) *Conditioned Reflexes: An Investigation of the Physiological Activity of the Cerebral Cortex*. London: Oxford University.
- Pei L, Lee FJ, Moszczynska A, Vukusic B, Liu F (2004) Regulation of dopamine D1 receptor function by physical interaction with the NMDA receptors. *J Neurosci* 24:1149-1158.
- Pettit DL, Perlman S, Malinow R (1994) Potentiated transmission and prevention of further LTP by increased CaMKII activity in postsynaptic hippocampal slice neurons. *Science* 266:1881-1885.
- Piazza PV, Le Moal ML (1996) Pathophysiological basis of vulnerability to drug abuse: role of an interaction between stress, glucocorticoids, and dopaminergic neurons. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 36:359-378.
- Pu L, Bao GB, Xu NJ, Ma L, Pei G (2002) Hippocampal long-term potentiation is reduced by chronic opiate treatment and can be restored by re-exposure to opiates. *J Neurosci* 22:1914-1921.
- Qi YL, Adler J (1989) Salt taxis in *Escherichia coli* bacteria and its lack in mutants. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86:8358-8362.
- Rasmussen DD, Boldt BM, Bryant CA, Mitton DR, Larsen SA, Wilkinson CW (2000) Chronic daily ethanol and withdrawal: 1. Long-term changes in the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Alcohol Clin Exp Res* 24: 1836-1849.
- Rescorla RA (1994) Control of instrumental performance by Pavlovian and instrumental stimuli. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 20:44-50.
- Reymann KG, Frey JU (2007) The late maintenance of hippocampal LTP: requirements, phases, 'synaptic tagging', 'late-associativity' and implications. *Neuropharmacology* 52:24-40.
- Rivier C, Bruhn T, Vale W (1984) Effect of ethanol on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the rat: role of corticotropin-releasing factor (CRF). *J Pharmacol Exp Ther*. 229: 127-131.
- Robbins TW, Everitt BJ (2002) Limbic-striatal memory systems and drug addiction. *Neurobiol Learn Mem* 78:625-636.
- Robinson TE, Becker JB (1986) Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration: a review and evaluation of animal models of amphetamine psychosis. *Brain Res* 396:157-198.
- Robinson TE, Berridge KC (1993) The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res Brain Res Rev* 18:247-291.
- Robinson TE, Berridge KC (2003) Addiction. *Annu Rev Psychol* 54:25-53.
- Royer S, Pare D (2003) Conservation of total synaptic weight through balanced synaptic depression and potentiation. *Nature* 422:518-522.
- Rumpel S, LeDoux J, Zador A, Malinow R (2005) Postsynaptic receptor trafficking underlying a form of associative learning. *Science* 308:83-88.
- Sajikumar S, Frey JU (2004) Late-associativity, synaptic tagging, and the role of

- dopamine during LTP and LTD. *Neurobiol Learn Mem* 82:12-25.
- Sajikumar S, Navakkode S, Sacktor TC, Frey JU (2005) Synaptic tagging and cross-tagging: the role of protein kinase Mzeta in maintaining long-term potentiation but not long-term depression. *J Neurosci* 25:5750-5756.
- Scanziani M, Malenka RC, Nicoll RA (1996) Role of intercellular interactions in heterosynaptic long-term depression. *Nature* 380:446-450.
- Schafe GE, LeDoux JE (2000) Memory consolidation of auditory pavlovian fear conditioning requires protein synthesis and protein kinase A in the amygdala. *J Neurosci* 20:RC96.
- Schenk S, Partridge B (2000) Sensitization to cocaine's reinforcing effects produced by various cocaine pretreatment regimens in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 66:765-770.
- Schmidt HD, Anderson SM, Pierce RC (2006) Stimulation of D1-like or D2 dopamine receptors in the shell, but not the core, of the nucleus accumbens reinstates cocaine-seeking behaviour in the rat. *Eur J Neurosci* 23:219-228.
- Schmidt HD, Anderson SM, Famous KR, Kumaresan V, Pierce RC (2005) Anatomy and pharmacology of cocaine priming-induced reinstatement of drug seeking. *Eur J Pharmacol* 526:65-76.
- Schoenbaum G, Chiba AA, Gallagher M (2000) Changes in functional connectivity in orbitofrontal cortex and basolateral amygdala during learning and reversal training. *J Neurosci* 20:5179-5189.
- Schulteis G, Ahmed SH, Morse AC, Koob GF, Everitt BJ (2000) Conditioning and opiate withdrawal. *Nature* 405:1013-1014.
- Schultz W (2006) Behavioral theories and the neurophysiology of reward. *Annu Rev Psychol* 57:87-115.
- Schultz W, Dickinson A (2000) Neuronal coding of prediction errors. *Annu Rev Neurosci* 23:473-500.
- Scott L, Kruse MS, Forssberg H, Brismar H, Greengard P, Aperia A (2002) Selective up-regulation of dopamine D1 receptors in dendritic spines by NMDA receptor activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:1661-1664.
- Scoville WB, Milner B (1957) Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 20:11-21.
- Serrano P, Yao Y, Sacktor TC (2005) Persistent phosphorylation by protein kinase Mzeta maintains late-phase long-term potentiation. *J Neurosci* 25:1979-1984.
- Sesack SR, Pickel VM (1990) In the rat medial nucleus accumbens, hippocampal and catecholaminergic terminals converge on spiny neurons and are in apposition to each other. *Brain Res* 527:266-279.
- Sheng M, Kim MJ (2002) Postsynaptic signaling and plasticity mechanisms. *Science* 298:776-780.
- Shimizu E, Tang YP, Rampon C, Tsien JZ (2000) NMDA receptor-dependent synaptic reinforcement as a crucial process for memory consolidation. *Science* 290:1170-1174.
- Siegel JM (2001) The REM sleep-memory consolidation hypothesis. *Science* 294:1058-1063.

- Silva AJ, Paylor R, Wehner JM, Tonegawa S (1992) Impaired spatial learning in alpha-calcium-calmodulin kinase II mutant mice. *Science* 257:206-211.
- Silva AJ, Kogan JH, Frankland PW, Kida S (1998) CREB and memory. *Annu Rev Neurosci* 21:127-148.
- Smith-Roe SL, Kelley AE (2000) Coincident activation of NMDA and dopamine D1 receptors within the nucleus accumbens core is required for appetitive instrumental learning. *J Neurosci* 20:7737-7742.
- Smith WB, Starck SR, Roberts RW, Schuman EM (2005) Dopaminergic stimulation of local protein synthesis enhances surface expression of GluR1 and synaptic transmission in hippocampal neurons. *Neuron* 45:765-779.
- Snyder EM, Colledge M, Crozier RA, Chen WS, Scott JD, Bear MF (2005) Role for A kinase-anchoring proteins (AKAPS) in glutamate receptor trafficking and long term synaptic depression. *J Biol Chem* 280:16962-16968.
- Solomon RL (1980) The opponent-process theory of acquired motivation: the costs of pleasure and the benefits of pain. *Am Psychol* 35:691-712.
- Solomon RL, Corbit JD (1974) An opponent-process theory of motivation: 1. Temporal dynamics of affect. *Psychol Rev* 81: 119-145.
- Song I, Huganir RL (2002) Regulation of AMPA receptors during synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 25:578-588.
- Squire LR, Alvarez P (1995) Retrograde amnesia and memory consolidation: a neurobiological perspective. *Curr Opin Neurobiol* 5:169-177.
- Staubli U, Lynch G (1987) Stable hippocampal long-term potentiation elicited by 'theta' pattern stimulation. *Brain Res* 435:227-234.
- Staubli U, Lynch G (1990) Stable depression of potentiated synaptic responses in the hippocampus with 1-5 Hz stimulation. *Brain Res* 513:113-118.
- Stein V, House DR, Brecht DS, Nicoll RA (2003) Postsynaptic density-95 mimics and occludes hippocampal long-term potentiation and enhances long-term depression. *J Neurosci* 23:5503-5506.
- Steiner H, Kitai ST (2000) Regulation of rat cortex function by D1 dopamine receptors in the striatum. *J Neurosci* 20:5449-5460.
- Steward O, Worley PF (2001a) A cellular mechanism for targeting newly synthesized mRNAs to synaptic sites on dendrites. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:7062-7068.
- Steward O, Worley PF (2001b) Selective targeting of newly synthesized Arc mRNA to active synapses requires NMDA receptor activation. *Neuron* 30:227-240.
- Stewart J, de Wit H, Eikelboom R (1984) Role of unconditioned and conditioned drug effects in the self-administration of opiates and stimulants. *Psychol Rev* 91:251-268.
- Stickgold R, Hobson JA, Fosse R, Fosse M (2001) Sleep, learning, and dreams: off-line memory reprocessing. *Science* 294:1052-1057.
- Sutton MA, Schuman EM (2006) Dendritic protein synthesis, synaptic plasticity, and memory. *Cell* 127:49-58.
- Sweatt JD (2004) Mitogen-activated protein kinases in synaptic plasticity and memory. *Curr Opin Neurobiol* 14:311-317.

- Thomas GM, Huganir RL (2004) MAPK cascade signalling and synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci* 5:173-183.
- Thompson AM, Gosnell BA, Wagner JJ (2002) Enhancement of long-term potentiation in the rat hippocampus following cocaine exposure. *Neuropharmacology* 42:1039-1042.
- Thompson AM, Swant J, Gosnell BA, Wagner JJ (2004) Modulation of long-term potentiation in the rat hippocampus following cocaine self-administration. *Neuroscience* 127:177-185.
- Thorsell A, Rapunte-Canonigo V, O'Dell L, Chen SA, King A, Lekic D, Koob G F, Sanna PP (2007) Viral vector-induced amygdala NPY overexpression reverses increased alcohol intake caused by repeated deprivations in Wistar rats. *Brain* 130: 1330-1337.
- Tiffany ST (1990) A cognitive model of drug urges and drug-use behavior: role of automatic and nonautomatic processes. *Psychol Rev* 97:147-168.
- Tong ZY, Overton PG, Clark D (1995) Chronic administration of (+)-amphetamine alters the reactivity of midbrain dopaminergic neurons to prefrontal cortex stimulation in the rat. *Brain Res* 674:63-74.
- Totterdell S, Smith AD (1989) Convergence of hippocampal and dopaminergic input onto identified neurons in the nucleus accumbens of the rat. *J Chem Neuroanat* 2:285-298.
- Tronson NC, Taylor JR (2007) Molecular mechanisms of memory reconsolidation. *Nat Rev Neurosci* 8:262-275.
- Trujillo KA, Akil H (1991) Inhibition of morphine tolerance and dependence by the NMDA receptor antagonist MK-801. *Science* 251:85-87.
- Tse D, Langston RF, Kakeyama M, Bethus I, Spooner PA, Wood ER, Witter MP, Morris RG (2007) Schemas and memory consolidation. *Science* 316:76-82.
- Tsien JZ, Huerta PT, Tonegawa S (1996) The essential role of hippocampal CA1 NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in spatial memory. *Cell* 87:1327-1338.
- Tsumoto T (1993) Long-term depression in cerebral cortex: a possible substrate of "forgetting" that should not be forgotten. *Neurosci Res* 16:263-270.
- Tulving E (2002) Episodic memory: from mind to brain. *Annu Rev Psychol* 53:1-25.
- Turrigiano GG (2008) The self-tuning neuron: synaptic scaling of excitatory synapses. *Cell* 135:422-435.
- Turrigiano GG, Nelson SB (2004) Homeostatic plasticity in the developing nervous system. *Nat Rev Neurosci* 5:97-107.
- Turrigiano GG, Leslie KR, Desai NS, Rutherford LC, Nelson SB (1998) Activity-dependent scaling of quantal amplitude in neocortical neurons. *Nature* 391:892-896.
- Tzschentke TM (1998) Measuring reward with the conditioned place preference paradigm: a comprehensive review of drug effects, recent progress and new issues. *Prog Neurobiol* 56:613-672.
- Tzschentke TM, Schmidt WJ (2003) Glutamatergic mechanisms in addiction. *Mol Psychiatry* 8:373-382.

- Valjent E, Corvol JC, Pages C, Besson MJ, Maldonado R, Caboche J (2000) Involvement of the extracellular signal-regulated kinase cascade for cocaine-rewarding properties. *J Neurosci* 20:8701-8709.
- Vezina P (2004) Sensitization of midbrain dopamine neuron reactivity and the self-administration of psychomotor stimulant drugs. *Neurosci Biobehav Rev* 27:827-839.
- Vorel SR, Liu X, Hayes RJ, Spector JA, Gardner EL (2001) Relapse to cocaine-seeking after hippocampal theta burst stimulation. *Science* 292:1175-1178.
- Wang J, O'Donnell P (2001) D(1) dopamine receptors potentiate nmda-mediated excitability increase in layer V prefrontal cortical pyramidal neurons. *Cereb Cortex* 11:452-462.
- Wang JQ, Daunais JB, McGinty JF (1994) NMDA receptors mediate amphetamine-induced upregulation of zif/268 and preprodynorphin mRNA expression in rat striatum. *Synapse* 18:343-353.
- Wang XY, Zhao M, Ghitza UE, Li YQ, Lu L (2008) Stress impairs reconsolidation of drug memory via glucocorticoid receptors in the basolateral amygdala. *J Neurosci* 28:5602-5610.
- Wang Z, Xu NL, Wu CP, Duan S, Poo MM (2003) Bidirectional changes in spatial dendritic integration accompanying long-term synaptic modifications. *Neuron* 37:463-472.
- Watanabe S, Hoffman DA, Migliore M, Johnston D (2002) Dendritic K⁺ channels contribute to spike-timing dependent long-term potentiation in hippocampal pyramidal neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:8366-8371.
- Weiss F, Markou A, Lorang MT, Koob GF (1992) Basal extracellular dopamine levels in the nucleus accumbens are decreased during cocaine withdrawal after unlimited-access self-administration. *Brain Res* 593: 314-318.
- Weiss F, Parsons LH, Schulteis G, Hyttia P, Lorang MT, Bloom FE, Koob GF (1996) Ethanol selfadministration restores withdrawal-associated deficiencies in accumbal dopamine and 5-hydroxytryptamine release in dependent rats. *J Neurosci*. 16: 3474-3485.
- Wenthold RJ, Petralia RS, Blahos J, II, Niedzielski AS (1996) Evidence for multiple AMPA receptor complexes in hippocampal CA1/CA2 neurons. *J Neurosci* 16:1982-1989.
- Whitlock JR, Heynen AJ, Shuler MG, Bear MF (2006) Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. *Science* 313:1093-1097.
- Wikler A (1948) Recent progress in research on the neurophysiological basis of morphine addiction. *Am J Psychiatry* 105:329-38.
- Wikler A (1973) Dynamics of drug dependence. Implications of a conditioning theory for research and treatment. *Arch Gen Psychiatry* 28:611-616.
- Wikler A, Pescor FT (1967) Classical conditioning of a morphine abstinence phenomenon, reinforcement of opioid-drinking behavior and "relapse" in morphine-addicted rats. *Psychopharmacologia* 10:255-284.
- Will MJ, Franzblau EB, Kelley AE (2004) The amygdala is critical for

- opioid-mediated binge eating of fat. *Neuroreport* 15:1857-1860.
- Wittenberg GM, Tsien JZ (2002) An emerging molecular and cellular framework for memory processing by the hippocampus. *Trends Neurosci* 25:501-505.
- Wittenberg GM, Sullivan MR, Tsien JZ (2002) Synaptic reentry reinforcement based network model for long-term memory consolidation. *Hippocampus* 12:637-647.
- Witter MP, Groenewegen HJ, Lopes da Silva FH, Lohman AH (1989) Functional organization of the extrinsic and intrinsic circuitry of the parahippocampal region. *Prog Neurobiol* 33:161-253.
- Wolf ME (1998) The role of excitatory amino acids in behavioral sensitization to psychomotor stimulants. *Prog Neurobiol* 54:679-720.
- Wu J, Rush A, Rowan MJ, Anwyl R (2001) NMDA receptor- and metabotropic glutamate receptor-dependent synaptic plasticity induced by high frequency stimulation in the rat dentate gyrus in vitro. *J Physiol* 533:745-755.
- Xu L, Anwyl R, Rowan MJ (1997) Behavioural stress facilitates the induction of long-term depression in the hippocampus. *Nature* 387:497-500.
- Xu L, Anwyl R, Rowan MJ (1998) Spatial exploration induces a persistent reversal of long-term potentiation in rat hippocampus. *Nature* 394:891-894.
- Yang Y, Zheng X, Wang Y, Cao J, Dong Z, Cai J, Sui N, Xu L (2004) Stress enables synaptic depression in CA1 synapses by acute and chronic morphine: possible mechanisms for corticosterone on opiate addiction. *J Neurosci* 24:2412-2420.
- Yeckel MF, Berger TW (1990) Feedforward excitation of the hippocampus by afferents from the entorhinal cortex: redefinition of the role of the trisynaptic pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87:5832-5836.
- Young JZ, Isiegas C, Abel T, Nguyen PV (2006) Metaplasticity of the late-phase of long-term potentiation: a critical role for protein kinase A in synaptic tagging. *Eur J Neurosci* 23:1784-1794.
- Yuste R, Bonhoeffer T (2001) Morphological changes in dendritic spines associated with long-term synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci* 24:1071-1089.
- Zarrindast MR, Azami BN, Rostami P, Rezayof A (2006) Repeated administration of dopaminergic agents in the nucleus accumbens and morphine-induced place preference. *Behav Brain Res* 169:248-255.
- Zhou Y, Wu H, Li S, Chen Q, Cheng XW, Zheng J, Takemori H, Xiong ZQ (2006) Requirement of TORC1 for late-phase long-term potentiation in the hippocampus. *PLoS ONE* 1:e16.

五、综述

成瘾与学习记忆

物质成瘾常被定义为强迫性用药行为,成瘾者为了获取成瘾物质而不顾其它后果,对成瘾物质的使用逐渐丧失控制力。物质成瘾还有一个显著特征便是持久性,成瘾者即便戒断症状已经消退多年,当出现成瘾物质关联的线索时,仍会出现对成瘾物质的强烈渴求,仍然有较高的复吸风险(Wikler and Pescor, 1967; O'Brien et al., 1998)。与此同时,研究发现物质成瘾与学习记忆有相似的细胞分子基础(Hyman and Malenka, 2001; Nestler, 2002; Chao and Nestler, 2004; Kelley, 2004)。因此,成瘾又被认为是一种病理性学习与记忆,篡夺了学习记忆的神经机制,导致对奖赏效应以及奖赏相关线索念念不忘(Hyman, 2005; Hyman et al., 2006)。如果能逆转或阻止成瘾物质诱发的突触修饰,可能有助于的强迫性用药行为的治疗,进而减少复吸的风险(Kauer and Malenka, 2007)。

1 奖赏相关的学习

个体以及种群为了生存的需要,往往会不计代价及风险以获得所需的资源(例如:食物及交配对象)。这种生存相关联的基本需求具有奖赏效应以及阳性强化效应(Kelley, 2004)。内在的激励状态如:饥饿、口渴以及性唤起,会增加对具有奖赏效应的事物或相关线索的动机价值,也增加了愉悦感(如:饿时更觉饭菜香)(Kelley, 2004)。当奖赏关联的线索出现时(如食物的气味),机体会处于激励状态,并展开一系列复杂的行动,克服困难以求获得奖赏效应。通过反复的学习,这种追求奖赏的行为会变得越来越流畅,越来越有效。药理学、转基因以及微透析等多方面的研究已经证实,成瘾物质的奖赏效应是由于中脑腹侧被盖区(Ventral tegmental area, VTA)多巴胺能神经元在伏隔核(Nucleus accumbens, Nac)释放的多巴胺(Dopamine, DA)增加所致(Wise and Bozarth, 1987; Koob and Bloom, 1988; Di Chiara, 1998)。VTA向前额叶(Prefrontal cortex, PFC)及杏仁核(Amygdala, AMG)等区域的DA能投射,在成瘾行为中也发挥了关键性的作用(Everitt et al., 1999)。

1.1 多巴胺的作用

DA释放传递了怎样的信息呢?关于DA的早期观点认为,DA是一种快感信号。药理学、局部损毁(Berridge and Robinson, 1998)及遗传学(Cannon and Palmiter, 2003)等方面的研究表明,DA与快感信号关联的必要性受到了质疑,因为DA缺失后实验动物继续显示对糖水的偏好。另外,阿片、大麻、酒精以及尼古丁可能

通过非多巴胺机制而获得部分奖赏效应(Hyman et al., 2006)。阿片类物质在成瘾行为中常常表现出非多巴胺依赖的机制:阿片类可通过作用于 Nac 上 μ 受体,形成 Nac 区域的自身给药模型;予以 DA 拮抗剂或 VTA 损毁不影响海洛因静脉自身给药(Pettit et al., 1984; Bardo, 1998);在阿片关联线索的学习过程中,DA 也不是必不可少的因素。损毁实验以及基因敲除小鼠实验表明,在某种特定的情况下,DA 对于奖赏相关的学习不是必要条件。与此同时,在正常的生理情况下,DA 在奖赏相关的学习中起了重要作用(Schultz et al., 1997; Schultz, 2006)。Schultz 等在体记录 VTA 上 DA 能神经元发放的动物实验中发现,当奖赏如期而至时,DA 神经元基础发放没有变化;当奖赏出乎意料的降临(Positive reward prediction error),则出现短阵的 DA 发放增加;当奖赏没能如期而至(Negative prediction error),DA 神经元的基础发放出现暂停(Schultz et al., 1993; Montague et al., 1996; Schultz et al., 1997; Schultz, 1998; Montague et al., 2004)。尽管该实验结果并没能其它实验室完全复制出来,但是值得注意的是,成瘾物质对于自然奖赏而言可能是一种额外的奖赏,而且成瘾物质具有即刻升高 DA 水平的药理学作用,因此大脑可能会反复得到信号:成瘾物质是一种出乎意料的奖赏(Positive reward prediction error)。Berridge 和 Robinson 认为,DA 对于糖水实验而言并不代表糖水给实验动物带来的愉悦体验,而是 Nac 通过 DA 信号将动机凸显(Incentive salience)分配给奖赏源及奖赏关联的线索(Berridge and Robinson, 1998),因而这些线索能激发渴求的状态;在缺乏 DA 活动时,实验动物仍然会喜欢具有奖赏效应的物质(Liking),但是该物质不能激励动物采取必要的行动去获取奖赏效应(Wanting)。总之,DA 释放并不代表愉悦感,可能是作为一种预测-错误(Prediction-error)信号,并以此引导行为重塑,以利于更有效的获取奖赏。

1.2 多巴胺在前额叶的作用

在正常的生活环境中,生物体会对多种行为目标进行评估,然后进行取舍,最终生物体会选择其中最有价值的目标,并组织相应的行为去实现该目标。成瘾物质能病理性缩窄目标选择的范围,并使获取成瘾物质成为首要目标任务。PFC 介导执行功能、工作记忆及反应导向等,它能使相应的信息处于“在线”状态,以方便与其它信息的整合及信息的升级。PFC 是动机系统重要组成部分,与其它皮层脑区有大量的往返纤维联系(Floyd et al., 2001),对目标任务的评估与取舍有关键性作用(Miller and Cohen, 2001; Matsumoto et al., 2003; Roesch and Olson, 2004; Rolls, 2004)。PFC 中的眶额皮质(Orbitofrontal cortex, OFC)与 AMG、背侧纹状体、Nac、下丘脑以及岛叶之间互有联系,整合了工作记忆主体的情绪及动机信息(Schoenbaum and Roesch, 2005)。与 Nac 类似,PFC 接受 VTA 的 DA 投射,而 DA 的发放可能控制着 PFC 中信息的升级,以及相应的新目标的选择。

成瘾物质具有促进 DA 释放的功能, 在 OFC 以及其它的 PFC 区域生成过多的 DA 信号, 因而干扰了 PFC、Nac 以及背侧纹状体等区域的 DA 关联的学习(Berke and Hyman, 2000; Montague et al., 2004), 可能会导致成瘾物质关联线索的过度学习, 以及对成瘾物质的价值评估高于其它目标。此外, 成瘾物质强大的 DA 释放功能, 减弱了上述脑区对自然奖赏物质的反应, 并使之丧失成为首选目标任务的竞争能力, 生物体也因此逐渐丧失了对成瘾物质使用的控制。

1.3 奖赏相关的学习

联合型学习受到关注得益于对条件化成瘾物质关联线索的研究, 研究发现条件化线索能引发成瘾物质的使用及复吸(Wikler and Pescor, 1967; Tiffany, 1990; O'Brien et al., 1998)。成瘾物质关联的线索包括外在的感官刺激(如: 相关的人, 使用的器具, 成瘾物质使用时的环境等), 内感受性刺激(如: 成瘾物质使用时的体验, 包含戒断体验)等。成瘾物质具有多维强化效应: 首先, 成瘾物质可作为“操作强化刺激”(Instrumental reinforcer), 为了增加强化效应的可能性, 导致自身给药(Self-administration)行为或用药行为。其次, 环境刺激通过巴甫洛夫条件反射, 在时间空间上与自身给药时获得的动机凸显效应, 形成密切联系。再者, 成瘾物质会产生主观的个体体验, 包括自我感觉及歪曲的感知体验。上述效应的任意组合便构成了成瘾物质的奖赏效应(Everitt and Robbins, 2005)。

在刺激-奖赏-行为(获取奖赏的行为)的学习过程中, 都会与相应的线索、相应环境产生关联。DA 调动生物体进入激励状态对于获取奖赏起了关键作用, 但是对奖赏的感知、评价、后继的行为以及奖赏关联的环境线索的激发作用, 得通过感觉-运动系统及学习记忆系统等多方面的联合作用。位于中脑的 VTA 和黑质(Substantia nigra, SN)多巴胺能神经元, 通过内侧前脑束, 广泛投射到 PFC、纹状体、AMG 及海马等脑区。而 PFC、AMG 及海马也发出大量的谷氨酸能纤维投射到纹状体。谷氨酸(Glutamate, Glu)与 DA 在 Nac、PFC、AMG、海马以及背侧纹状体的交互作用, 可能对生物体的激励状态、环境线索的动机凸显以及特定的行为反应等方面起了关键作用(McFarland et al., 2003; Kalivas, 2004)。VTA 向 Nac 的 DA 投射在觅药行为的形成中发挥了关键作用, Nac 的壳(Shell)在可卡因自身给药的初期有着重要作用, 而对于线索激发觅药行为则依赖于 Nac 的核(Core)。一旦线索与可卡因觅药行为的关联已经确立, 可卡因觅药行为则不再依赖 Nac, 转为背侧纹状体依赖的觅药行为, 此时在 Nac 局部阻断 DA 受体或 AMPAR 对条件线索关联的觅药行为没有影响, 将上述任何受体的拮抗剂注入背侧纹状体则阻断了条件线索激发的觅药行为(Vanderschuren et al., 2005)。海马是联合型学习记忆的关键脑区, 编码巩固新颖环境信息, 参与环境刺激关联的信息

学习(Morris et al., 2003)。杏仁核参与了奖赏评估和奖赏关联的学习(Schoenbaum et al., 2000; Cardinal et al., 2002), 特别是基底外侧核的部分, 杏仁核失活会阻断纹状体-下丘脑回路介导的摄食行为的表达(Will et al., 2004)。事实上, DA 能和谷氨酸能纤维末梢可紧邻出现在同一个树突棘上, 这也就为两者的相互作用提供了关键的结构基础(Totterdell and Smith, 1989; Sesack and Pickel, 1990)。奖赏关联刺激以及后继行为反应等信息都需要详细记录, 其中的内在机制与联合型长时程记忆的机制是相似的即激活谷氨酸受体介导的突触修饰(Derkach et al., 2007), 因此成瘾可能是一种病理性的记忆, 篡夺了正常的奖赏关联的学习记忆系统。

2 戒断相关的学习与记忆

Wikler and Pescor (1967)证实了经历过戒断的实验动物, 当再次暴露与戒断关联的环境时, 能激发条件化戒断状态, 基于条件化戒断状态的负性体验, 他们预测条件化戒断状态能提高觅药动机(负性强化), 但当时的实验一直难以证实该预测。Shaham, Rajabi, & Stewart (1996) 证实海洛因自发戒断反应能增强实验动物的觅药行为, 而纳洛酮激发的戒断反应没有该现象。也有观点认为成瘾物质依赖时的正性强化效应或奖赏效应促成了戒断时期的负性体验, 认为习得性戒断相关线索能激发戒断反应, 并引发对成瘾物质的渴求、觅药、复吸, 最终激发强迫性用药行为(Schultheis et al., 2000)。Helleman, Dickinson & Everitt (2006) 证实纳洛酮激发的戒断相关联的条件化刺激抑制了海洛因觅药行为, 但是当该条件化刺激曾与海洛因用药行为有联系时, 则能增加觅药行为。Catherine Le Moine 等认为存在戒断记忆, 环境特征与用药体验或戒断体验均能形成联合型学习并获得相应的记忆(Wikler, 1973; Childress et al., 1993), 戒断相关线索能提取戒断记忆, 从而产生激励状态, 促成觅药、用药行为(Ahmed et al., 2000)。

3 自发活动敏感化与学习记忆

Berridge 和 Robinson 提出了动机敏感化假设(Robinson and Berridge, 1993, 2003), 认为成瘾物质能使实验动物出现自发活动敏感化, 成瘾物质也能使动机凸显敏感化, 并把凸显的动机分配给成瘾物质及相关环境线索。自发活动敏感化是一个具有吸引力的成瘾模型, 因为实验动物自发活动敏感化可保持很长时间, 并且可以以环境依赖的方式表达(Anagnostaras and Robinson, 1996)。动机敏感化假设认为动机凸显会引起对成瘾物质的强烈渴求, 并可能被环境线索激发(Robinson and Berridge, 1993, 2003)。反对该假设的提出质疑, 实验动物上表现出的自发活动敏感化及其神经机制是否在人类成瘾过程中也同样存在。在动物模型中, 自发活动敏感化被认为在 VTA 形成, 在 Nac 表达(Kalivas and Weber, 1988; Vezina and Stewart, 1990), 对 DA 反应增强被认为是潜在的机制。在解释环境线

索激发觅药渴求及行为时,动机敏感化假设认为动机凸显起了关键作用,但是显然不能排除联合型学习及成瘾记忆在其中的关键作用。有研究证实 AMPAR 基因敲除小鼠仍然保留了自发活动敏感化,但是当实验动物处于可卡因关联的环境时不能再表达自发活动敏感化,也不能形成条件位置偏好 (Conditioned place preference, CPP) (Dong et al., 2004)。这说明了联合型学习在编码成瘾物质关联的特定线索以及线索激发特定的反应等方面起了关键作用 (Berke and Hyman, 2000; Berke, 2003)。

4 成瘾行为与学习记忆的细胞分子机制

究竟什么才是成瘾行为的细胞及分子机制?该机制至少能解释如下三方面问题:1) 成瘾物质引起的 DA 释放增加,是如何把成瘾物质的使用,引向强迫性用药行为。2) 成瘾物质停止使用数年后,为何仍具有复吸的风险。3) 成瘾物质关联的线索如何实现对行为的控制。突触可塑性是具有吸引力的候选机制,它能把成瘾物质引发的信号如 DA 释放,转化为相应神经回路的再塑造。突触可塑性通过改变突触权重可能会导致突触的形成与消亡并实现对树突或轴突结构的再塑造 (Chklovskii et al., 2004)。成瘾物质关联的线索以及线索引发的相应行为反应,提示了至少部分的成瘾机制是涉及联合性以及突触专一性。长时程增强 (Long-term potentiation, LTP) 以及长时程抑制 (Long-term depression, LTD) 很好的反应了联合性及突触专一性。LTP 及 LTD 在多种形式的学习与记忆中被认为发挥了关键作用 (Martin et al., 2000; Malenka, 2003)。LTP 及 LTD 可引起神经元基因改变及蛋白质表达异常,从而导致神经回路的结构调整。对于成瘾物质导致的神经回路的改变, LTP 及 LTD 被认为是重要的候选机制 (Hyman and Malenka, 2001)。

4.1 VTA 的突触可塑性

首先,奖赏回路的突触可塑性在成瘾行为中有重要作用。在 VTA 局部注入 NMDAR 拮抗剂,阻断了成瘾物质敏感化的形成 (Wolf, 1998; Vanderschuren and Kalivas, 2000) 以及 CPP 的形成 (Kim et al., 1996; Harris and Aston-Jones, 2003)。NMDAR 在 LTP 及 LTD 诱导中起了关键作用 (Malenka and Bear, 2004), 于是这样的实验结果提示了成瘾物质可能在 VTA 诱导了突触可塑性。研究表明,在 VTA 兴奋性突触可诱导出 NMDAR 依赖的 LTP 及电压依赖钙通道依赖的 LTD (Bonci and Malenka, 1999; Jones et al., 2000; Thomas et al., 2000)。在体可卡因给药,离体 VTA 脑片实验显示,可卡因处理后出现 NMDAR 依赖的 AMPA/NMDA 的比值显著增加,此现象类似于 LTP 的突触效能变化。可卡因处理后的 VTA 多巴胺神经元上兴奋性突触难以诱导出 LTP, 提示这些突触的突触效能可能已经得到增强

(Ungless et al., 2001)。可卡因在 VTA 诱导的突触修饰一般持续 5-10 天(Borgland et al., 2004), 这也说明了成瘾物质在 VTA 区域的适应性改变不是持久不变的, 可能仅在成瘾的起始阶段有变化(Everitt and Wolf, 2002; Kauer, 2004)。此外, 在体给予苯丙胺、尼古丁、吗啡或酒精都出现了 VTA 多巴胺神经元 AMPA/NMDA 的比值增加(Saal et al., 2003)。

4.2 Nac 的突触可塑性

有研究显示, 经过 5 天可卡因给药, 在戒断 10-14 天后导致 Nac 的 Shell 区域 AMPA/NMDA 的比值降低(Thomas et al., 2001)。阻断 Nac 的 LTD, 阻断了苯丙胺诱导的自发活动敏感化的表达(Brebner et al., 2005)。在体大麻或可卡因给药, 抑制了 Nac 的 eCB-LTD(Hoffman et al., 2003; Fourgeaud et al., 2004; Mato et al., 2004)。新近研究证实, 长时间的可卡因戒断可引起 Nac 区域 GluR2-lacking AMPAR 增加, Nac 局部注射 GluR2-lacking AMPAR 阻断剂则阻断了线索激发的自身给药动物的复吸行为。因此, 增加的 GluR2-lacking AMPAR 可能介导了可卡因渴求及复吸行为(Conrad et al., 2008)。曾有报道, 刺激 Nac 的 D1/D5 受体, 可激发可卡因复吸行为(Anderson et al., 2003; Bachtell et al., 2005; Schmidt et al., 2006), 而激活 Nac 的 AMPAR 同样可以导致可卡因复吸(Kalivas et al., 2005; Schmidt et al., 2005)。有证据表明, 可卡因复吸与 D1 受体激活相关联, 而且伴随着 Nac 的 Shell 区域 CaMKII Thr286 磷酸化增加以及 GluR1 Ser831 的磷酸化增加(也是 CaMKII 磷酸化位点), 同时伴有 Nac 的 Shell 区域的 GluR1 表达增加, 此外 Intra-Shell 注射抑制 GluR1 AMPAR 转运的病毒载体(AAV10-GluR1-C99)则抑制了可卡因复吸行为(Anderson et al., 2008)。因此 CaMKII 可能是多巴胺系统与谷氨酸系统的共同信号通路, 而奖赏机制与学习机制共同孕育了介导成瘾物质渴求与复吸的神经可塑性变化。

除了 VTA 和 Nac, DA 也影响 PFC 的 LTP 和 LTD(Otani et al., 1998; Gurden et al., 1999; Huang et al., 2004b), 慢性可卡因给药可显著影响 PFC 锥体神经元的膜兴奋性(Nasif et al., 2005), 具体机理尚不清楚。有报道 DA 调节其它脑区的突触可塑性包括杏仁核(Bissiere et al., 2003)及海马(Huang and Kandel, 1995; Otmakhova and Lisman, 1996)。反复吗啡给药损害海马 LTP(Pu et al., 2002)而吗啡戒断易化 LTP(Dong et al., 2006), 反复可卡因给药易化海马 LTP(Thompson et al., 2002; Thompson et al., 2004)。

4.3 突触可塑性的分子机制

成瘾物质可在 Nac 及背侧纹状体引起持久的转录因子 Δ FosB 上调(Hope et al.,

1994), 也可引起 cAMP 反应元件结合蛋白 (cyclic AMP-response element binding protein, CREB) 暂时性的增加。CREB 可被多种蛋白激酶激活, 包括 cAMP 依赖的蛋白激酶、钙离子依赖的蛋白激酶。DA 通过 D1R, D2R 调整 cAMP 的表达, 激活了多种激酶通路, 包括 PKA, PKC, CaMK, 和 ERK/MAP/RSK 等, 通过控制 Ca^{2+} 电流, 调节关键的转录元件 CREB, 最终导致基因表达和蛋白质合成, 形成突触修饰, 因此 CREB 是 NMDA 与 DA 信号转导的共同通路(Silva et al., 1998)。大量的研究证实 CREB 在 LTP 及联合型记忆中发挥了重要作用(Lonze and Ginty, 2002)。可卡因及苯丙胺激活 Nac 及背侧纹状体的 D1 受体, 导致 CREB 磷酸化(Cole et al., 1995), CREB 可能在奖赏相关记忆的巩固中起了关键作用(Berke and Hyman, 2000; Hyman and Malenka, 2001)。可卡因及苯丙胺在激活 CREB 的同时也激活了强啡肽原的基因表达, 生成的强啡肽能抑制中脑多巴胺能神经元的 DA 的释放(Cole et al., 1995; Steiner and Gerfen, 1996)。D1 受体介导的强啡肽增多可被视为一种稳态调节, 负反馈调节 DA 的释放。此外 DA 和 cAMP 调节的磷蛋白 (dopamine and cyclic AMP regulated phospho-protein, DARPP) 及 PP1 在胞内信号磷酸化调节方面有重要作用(Greengard et al., 1998)。此外, 在边缘叶-纹状体有大量的即刻早期基因, 如 c-fos, c-jun, NGFI-B, homer1A, ania3, arc, and zif268 等, 这些早期基因的诱导很多是 NMDAR 与 D1R 依赖的(Wang et al., 1994; Konradi et al., 1996; Das et al., 1997; Liste et al., 1997; Steiner and Kitai, 2000; Steward and Worley, 2001a, b)。

然而迄今为止, 任何检测到的慢性成瘾物质暴露后分子水平的改变, 都不能匹配成瘾行为持久性的特征。即便 ΔfosB 信号, 一种比较长久的分子水平变化, 大约在戒断后 6-8 周后恢复正常(Nestler, 2008), 以及新近研究发现可卡因戒断后 45 天, Nac 区域 GluR2-lacking AMPAR 仍高于对照组(Conrad et al., 2008), 这些都不足以匹配成瘾行为持久性的特征。尽管动物实验研究表明以 DA 机制为代表的奖赏学习及 Glu 机制为代表的兴奋性突触修饰在成瘾的发生发展中起了重要作用, 但还远远无法确切解释人类的成瘾行为, 从成瘾机制的研究到成瘾行为的有效干预都还有很长的路要走。

参考文献

- Ahmed SH, Walker JR, Koob GF (2000) Persistent increase in the motivation to take heroin in rats with a history of drug escalation. *Neuropsychopharmacology* 22:413-421.
- Anagnostaras SG, Robinson TE (1996) Sensitization to the psychomotor stimulant effects of amphetamine: modulation by associative learning. *Behav Neurosci* 110:1397-1414.
- Anderson SM, Bari AA, Pierce RC (2003) Administration of the D1-like dopamine

- receptor antagonist SCH-23390 into the medial nucleus accumbens shell attenuates cocaine priming-induced reinstatement of drug-seeking behavior in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 168:132-138.
- Anderson SM, Famous KR, Sadri-Vakili G, Kumaresan V, Schmidt HD, Bass CE, Terwilliger EF, Cha JH, Pierce RC (2008) CaMKII: a biochemical bridge linking accumbens dopamine and glutamate systems in cocaine seeking. *Nat Neurosci* 11:344-353.
- Bachtell RK, Whisler K, Karanian D, Self DW (2005) Effects of intra-nucleus accumbens shell administration of dopamine agonists and antagonists on cocaine-taking and cocaine-seeking behaviors in the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 183:41-53.
- Bardo MT (1998) Neuropharmacological mechanisms of drug reward: beyond dopamine in the nucleus accumbens. *Crit Rev Neurobiol* 12:37-67.
- Berke JD (2003) Learning and memory mechanisms involved in compulsive drug use and relapse. *Methods Mol Med* 79:75-101.
- Berke JD, Hyman SE (2000) Addiction, dopamine, and the molecular mechanisms of memory. *Neuron* 25:515-532.
- Berridge KC, Robinson TE (1998) What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience? *Brain Res Brain Res Rev* 28:309-369.
- Bissiere S, Humeau Y, Luthi A (2003) Dopamine gates LTP induction in lateral amygdala by suppressing feedforward inhibition. *Nat Neurosci* 6:587-592.
- Bonci A, Malenka RC (1999) Properties and plasticity of excitatory synapses on dopaminergic and GABAergic cells in the ventral tegmental area. *J Neurosci* 19:3723-3730.
- Borgland SL, Malenka RC, Bonci A (2004) Acute and chronic cocaine-induced potentiation of synaptic strength in the ventral tegmental area: electrophysiological and behavioral correlates in individual rats. *J Neurosci* 24:7482-7490.
- Brebner K, Wong TP, Liu L, Liu Y, Campsall P, Gray S, Phelps L, Phillips AG, Wang YT (2005) Nucleus accumbens long-term depression and the expression of behavioral sensitization. *Science* 310:1340-1343.
- Cannon CM, Palmiter RD (2003) Reward without dopamine. *J Neurosci* 23:10827-10831.
- Cardinal RN, Parkinson JA, Hall J, Everitt BJ (2002) Emotion and motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neurosci Biobehav Rev* 26:321-352.
- Chao J, Nestler EJ (2004) Molecular neurobiology of drug addiction. *Annu Rev Med* 55:113-132.
- Childress AR, Hole AV, Ehrman RN, Robbins SJ, McLellan AT, O'Brien CP (1993) Cue reactivity and cue reactivity interventions in drug dependence. *NIDA Res Monogr* 137:73-95.
- Chklovskii DB, Mel BW, Svoboda K (2004) Cortical rewiring and information storage. *Nature* 431:782-788.

- Cole RL, Konradi C, Douglass J, Hyman SE (1995) Neuronal adaptation to amphetamine and dopamine: molecular mechanisms of prodynorphin gene regulation in rat striatum. *Neuron* 14:813-823.
- Conrad KL, Tseng KY, Uejima JL, Reimers JM, Heng LJ, Shaham Y, Marinelli M, Wolf ME (2008) Formation of accumbens GluR2-lacking AMPA receptors mediates incubation of cocaine craving. *Nature* 454:118-121.
- Das S, Grunert M, Williams L, Vincent SR (1997) NMDA and D1 receptors regulate the phosphorylation of CREB and the induction of c-fos in striatal neurons in primary culture. *Synapse* 25:227-233.
- Derkach VA, Oh MC, Guire ES, Soderling TR (2007) Regulatory mechanisms of AMPA receptors in synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci* 8:101-113.
- Di Chiara G (1998) A motivational learning hypothesis of the role of mesolimbic dopamine in compulsive drug use. *J Psychopharmacol* 12:54-67.
- Dong Y, Saal D, Thomas M, Faust R, Bonci A, Robinson T, Malenka RC (2004) Cocaine-induced potentiation of synaptic strength in dopamine neurons: behavioral correlates in GluRA(-/-) mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:14282-14287.
- Dong Z, Zhong W, Tian M, Han H, Cao J, Xu T, Luo J, Xu L (2006) Stress evoked by opiate withdrawal facilitates hippocampal LTP in vivo. *Hippocampus* 16:1017-1025.
- Everitt BJ, Wolf ME (2002) Psychomotor stimulant addiction: a neural systems perspective. *J Neurosci* 22:3312-3320.
- Everitt BJ, Robbins TW (2005) Neural systems of reinforcement for drug addiction: from actions to habits to compulsion. *Nat Neurosci* 8:1481-1489.
- Everitt BJ, Parkinson JA, Olmstead MC, Arroyo M, Robledo P, Robbins TW (1999) Associative processes in addiction and reward. The role of amygdala-ventral striatal subsystems. *Ann N Y Acad Sci* 877:412-438.
- Floyd NS, Price JL, Ferry AT, Keay KA, Bandler R (2001) Orbitomedial prefrontal cortical projections to hypothalamus in the rat. *J Comp Neurol* 432:307-328.
- Fourgeaud L, Mato S, Bouchet D, Hemar A, Worley PF, Manzoni OJ (2004) A single in vivo exposure to cocaine abolishes endocannabinoid-mediated long-term depression in the nucleus accumbens. *J Neurosci* 24:6939-6945.
- Greengard P, Nairn AC, Girault JA, Ouimet CC, Snyder GL, Fisone G, Allen PB, Fienberg A, Nishi A (1998) The DARPP-32/protein phosphatase-1 cascade: a model for signal integration. *Brain Res Brain Res Rev* 26:274-284.
- Gurden H, Tassin JP, Jay TM (1999) Integrity of the mesocortical dopaminergic system is necessary for complete expression of in vivo hippocampal-prefrontal cortex long-term potentiation. *Neuroscience* 94:1019-1027.
- Harris GC, Aston-Jones G (2003) Critical role for ventral tegmental glutamate in preference for a cocaine-conditioned environment. *Neuropsychopharmacology* 28:73-76.
- Hoffman AF, Oz M, Caulder T, Lupica CR (2003) Functional tolerance and blockade of long-term depression at synapses in the nucleus accumbens after chronic cannabinoid exposure. *J Neurosci* 23:4815-4820.

- Hope BT, Nye HE, Kelz MB, Self DW, Iadarola MJ, Nakabeppu Y, Duman RS, Nestler EJ (1994) Induction of a long-lasting AP-1 complex composed of altered Fos-like proteins in brain by chronic cocaine and other chronic treatments. *Neuron* 13:1235-1244.
- Huang YY, Kandel ER (1995) D1/D5 receptor agonists induce a protein synthesis-dependent late potentiation in the CA1 region of the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:2446-2450.
- Huang YY, Simpson E, Kellendonk C, Kandel ER (2004) Genetic evidence for the bidirectional modulation of synaptic plasticity in the prefrontal cortex by D1 receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:3236-3241.
- Hyman SE (2005) Addiction: a disease of learning and memory. *Am J Psychiatry* 162:1414-1422.
- Hyman SE, Malenka RC (2001) Addiction and the brain: the neurobiology of compulsion and its persistence. *Nat Rev Neurosci* 2:695-703.
- Hyman SE, Malenka RC, Nestler EJ (2006) Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. *Annu Rev Neurosci* 29:565-598.
- Jones S, Kornblum JL, Kauer JA (2000) Amphetamine blocks long-term synaptic depression in the ventral tegmental area. *J Neurosci* 20:5575-5580.
- Kalivas PW (2004) Glutamate systems in cocaine addiction. *Curr Opin Pharmacol* 4:23-29.
- Kalivas PW, Weber B (1988) Amphetamine injection into the ventral mesencephalon sensitizes rats to peripheral amphetamine and cocaine. *J Pharmacol Exp Ther* 245:1095-1102.
- Kalivas PW, Volkow N, Seamans J (2005) Unmanageable motivation in addiction: a pathology in prefrontal-accumbens glutamate transmission. *Neuron* 45:647-650.
- Kauer JA (2004) Learning mechanisms in addiction: synaptic plasticity in the ventral tegmental area as a result of exposure to drugs of abuse. *Annu Rev Physiol* 66:447-475.
- Kauer JA, Malenka RC (2007) Synaptic plasticity and addiction. *Nat Rev Neurosci* 8:844-858.
- Kelley AE (2004) Memory and addiction: shared neural circuitry and molecular mechanisms. *Neuron* 44:161-179.
- Kim HS, Park WK, Jang CG, Oh S (1996) Inhibition by MK-801 of cocaine-induced sensitization, conditioned place preference, and dopamine-receptor supersensitivity in mice. *Brain Res Bull* 40:201-207.
- Konradi C, Leveque JC, Hyman SE (1996) Amphetamine and dopamine-induced immediate early gene expression in striatal neurons depends on postsynaptic NMDA receptors and calcium. *J Neurosci* 16:4231-4239.
- Liste I, Guerra MJ, Caruncho HJ, Labandeira-Garcia JL (1997) Treadmill running induces striatal Fos expression via NMDA glutamate and dopamine receptors. *Exp Brain Res* 115:458-468.
- Lonze BE, Ginty DD (2002) Function and regulation of CREB family transcription factors in the nervous system. *Neuron* 35:605-623.

- Malenka RC (2003) The long-term potential of LTP. *Nat Rev Neurosci* 4:923-926.
- Malenka RC, Bear MF (2004) LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* 44:5-21.
- Martin SJ, Grimwood PD, Morris RG (2000) Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. *Annu Rev Neurosci* 23:649-711.
- Mato S, Chevalere V, Robbe D, Pazos A, Castillo PE, Manzoni OJ (2004) A single in-vivo exposure to delta 9THC blocks endocannabinoid-mediated synaptic plasticity. *Nat Neurosci* 7:585-586.
- Matsumoto K, Suzuki W, Tanaka K (2003) Neuronal correlates of goal-based motor selection in the prefrontal cortex. *Science* 301:229-232.
- McFarland K, Lapish CC, Kalivas PW (2003) Prefrontal glutamate release into the core of the nucleus accumbens mediates cocaine-induced reinstatement of drug-seeking behavior. *J Neurosci* 23:3531-3537.
- Miller EK, Cohen JD (2001) An integrative theory of prefrontal cortex function. *Annu Rev Neurosci* 24:167-202.
- Montague PR, Dayan P, Sejnowski TJ (1996) A framework for mesencephalic dopamine systems based on predictive Hebbian learning. *J Neurosci* 16:1936-1947.
- Montague PR, Hyman SE, Cohen JD (2004) Computational roles for dopamine in behavioural control. *Nature* 431:760-767.
- Morris RG, Moser EI, Riedel G, Martin SJ, Sandin J, Day M, O'Carroll C (2003) Elements of a neurobiological theory of the hippocampus: the role of activity-dependent synaptic plasticity in memory. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 358:773-786.
- Nasif FJ, Sidiropoulou K, Hu XT, White FJ (2005) Repeated cocaine administration increases membrane excitability of pyramidal neurons in the rat medial prefrontal cortex. *J Pharmacol Exp Ther* 312:1305-1313.
- Nestler EJ (2002) Common molecular and cellular substrates of addiction and memory. *Neurobiol Learn Mem* 78:637-647.
- O'Brien CP, Childress AR, Ehrman R, Robbins SJ (1998) Conditioning factors in drug abuse: can they explain compulsion? *J Psychopharmacol* 12:15-22.
- Otani S, Blond O, Desce JM, Crepel F (1998) Dopamine facilitates long-term depression of glutamatergic transmission in rat prefrontal cortex. *Neuroscience* 85:669-676.
- Otmakhova NA, Lisman JE (1996) D1/D5 dopamine receptor activation increases the magnitude of early long-term potentiation at CA1 hippocampal synapses. *J Neurosci* 16:7478-7486.
- Pettit HO, Ettenberg A, Bloom FE, Koob GF (1984) Destruction of dopamine in the nucleus accumbens selectively attenuates cocaine but not heroin self-administration in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 84:167-173.
- Pu L, Bao GB, Xu NJ, Ma L, Pei G (2002) Hippocampal long-term potentiation is reduced by chronic opiate treatment and can be restored by re-exposure to opiates. *J Neurosci* 22:1914-1921.
- Robinson TE, Berridge KC (1993) The neural basis of drug craving: an

- incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res Brain Res Rev* 18:247-291.
- Robinson TE, Berridge KC (2003) Addiction. *Annu Rev Psychol* 54:25-53.
- Roesch MR, Olson CR (2004) Neuronal activity related to reward value and motivation in primate frontal cortex. *Science* 304:307-310.
- Rolls ET (2004) The functions of the orbitofrontal cortex. *Brain Cogn* 55:11-29.
- Saal D, Dong Y, Bonci A, Malenka RC (2003) Drugs of abuse and stress trigger a common synaptic adaptation in dopamine neurons. *Neuron* 37:577-582.
- Schmidt HD, Anderson SM, Pierce RC (2006) Stimulation of D1-like or D2 dopamine receptors in the shell, but not the core, of the nucleus accumbens reinstates cocaine-seeking behaviour in the rat. *Eur J Neurosci* 23:219-228.
- Schmidt HD, Anderson SM, Famous KR, Kumaresan V, Pierce RC (2005) Anatomy and pharmacology of cocaine priming-induced reinstatement of drug seeking. *Eur J Pharmacol* 526:65-76.
- Schoenbaum G, Roesch M (2005) Orbitofrontal cortex, associative learning, and expectancies. *Neuron* 47:633-636.
- Schoenbaum G, Chiba AA, Gallagher M (2000) Changes in functional connectivity in orbitofrontal cortex and basolateral amygdala during learning and reversal training. *J Neurosci* 20:5179-5189.
- Schultz W (1998) Predictive reward signal of dopamine neurons. *J Neurophysiol* 80:1-27.
- Schultz W (2006) Behavioral theories and the neurophysiology of reward. *Annu Rev Psychol* 57:87-115.
- Schultz W, Apicella P, Ljungberg T (1993) Responses of monkey dopamine neurons to reward and conditioned stimuli during successive steps of learning a delayed response task. *J Neurosci* 13:900-913.
- Schultz W, Dayan P, Montague PR (1997) A neural substrate of prediction and reward. *Science* 275:1593-1599.
- Schultz W, Dickinson A (2000) Neuronal coding of prediction errors. *Annu Rev Neurosci* 23:473-500.
- Sesack SR, Pickel VM (1990) In the rat medial nucleus accumbens, hippocampal and catecholaminergic terminals converge on spiny neurons and are in apposition to each other. *Brain Res* 527:266-279.
- Silva AJ, Kogan JH, Frankland PW, Kida S (1998) CREB and memory. *Annu Rev Neurosci* 21:127-148.
- Steiner H, Gerfen CR (1996) Dynorphin regulates D1 dopamine receptor-mediated responses in the striatum: relative contributions of pre- and postsynaptic mechanisms in dorsal and ventral striatum demonstrated by altered immediate-early gene induction. *J Comp Neurol* 376:530-541.
- Steiner H, Kitai ST (2000) Regulation of rat cortex function by D1 dopamine receptors in the striatum. *J Neurosci* 20:5449-5460.
- Steward O, Worley PF (2001a) Selective targeting of newly synthesized Arc mRNA to active synapses requires NMDA receptor activation. *Neuron* 30:227-240.
- Steward O, Worley PF (2001b) A cellular mechanism for targeting newly synthesized

- mRNAs to synaptic sites on dendrites. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:7062-7068.
- Thomas MJ, Malenka RC, Bonci A (2000) Modulation of long-term depression by dopamine in the mesolimbic system. *J Neurosci* 20:5581-5586.
- Thomas MJ, Beurrier C, Bonci A, Malenka RC (2001) Long-term depression in the nucleus accumbens: a neural correlate of behavioral sensitization to cocaine. *Nat Neurosci* 4:1217-1223.
- Thompson AM, Gosnell BA, Wagner JJ (2002) Enhancement of long-term potentiation in the rat hippocampus following cocaine exposure. *Neuropharmacology* 42:1039-1042.
- Thompson AM, Swant J, Gosnell BA, Wagner JJ (2004) Modulation of long-term potentiation in the rat hippocampus following cocaine self-administration. *Neuroscience* 127:177-185.
- Tiffany ST (1990) A cognitive model of drug urges and drug-use behavior: role of automatic and nonautomatic processes. *Psychol Rev* 97:147-168.
- Totterdell S, Smith AD (1989) Convergence of hippocampal and dopaminergic input onto identified neurons in the nucleus accumbens of the rat. *J Chem Neuroanat* 2:285-298.
- Ungless MA, Whistler JL, Malenka RC, Bonci A (2001) Single cocaine exposure in vivo induces long-term potentiation in dopamine neurons. *Nature* 411:583-587.
- Vanderschuren LJ, Kalivas PW (2000) Alterations in dopaminergic and glutamatergic transmission in the induction and expression of behavioral sensitization: a critical review of preclinical studies. *Psychopharmacology (Berl)* 151:99-120.
- Vanderschuren LJ, Di Ciano P, Everitt BJ (2005) Involvement of the dorsal striatum in cue-controlled cocaine seeking. *J Neurosci* 25:8665-8670.
- Vezina P, Stewart J (1990) Amphetamine administered to the ventral tegmental area but not to the nucleus accumbens sensitizes rats to systemic morphine: lack of conditioned effects. *Brain Res* 516:99-106.
- Wang JQ, Daunais JB, McGinty JF (1994) NMDA receptors mediate amphetamine-induced upregulation of zif/268 and preprodynorphin mRNA expression in rat striatum. *Synapse* 18:343-353.
- Wikler A (1973) Dynamics of drug dependence. Implications of a conditioning theory for research and treatment. *Arch Gen Psychiatry* 28:611-616.
- Will MJ, Franzblau EB, Kelley AE (2004) The amygdala is critical for opioid-mediated binge eating of fat. *Neuroreport* 15:1857-1860.
- Wise RA, Bozarth MA (1987) A psychomotor stimulant theory of addiction. *Psychol Rev* 94:469-492.
- Wolf ME (1998) The role of excitatory amino acids in behavioral sensitization to psychomotor stimulants. *Prog Neurobiol* 54:679-720.

六、致谢

值此论文完成之际，衷心感谢三年来所有在学习、工作和生活中给予我指导和帮助的人们！

感谢我的师傅——博士生导师郝伟教授，您严谨的作风、求实的态度以及对科学孜孜不倦的追求，深深的感染了我，激励着我。我们言谈不多，但阅读您撰写的书籍，您广博的知识、缜密的逻辑、灵动的观点都跃然纸上——文如其人。

感谢我的博士课题指导老师徐林研究员，您是我科研之路的领路人，行近不惑的我，能得到您的指点，是我一生的幸运。您睿智的科研思路，不畏艰难的探索精神，大胆而不失审慎科研判断，正直果断的行事作风，影响着您身边的每个人。

感谢中国科学院昆明动物所学习与记忆实验室的杨上川老师、王丽萍老师、杨跃雄老师、曹军老师，感谢你们对我学习和工作上的指导。感谢张继川博士、董志芳博士、李红斌博士、马文裴博士、周启心博士、毛榕榕博士、白华毅博士，感谢田孟、韩会丽、程宇琪、朱颀颀、吴坤、井亮、段婷婷、谭继伟、温菲及其他工作人员，感谢你们的帮助，感谢你们给我的工作和学习带来了快乐。

感谢同门师兄谌红献博士、师姐向小军博士、师兄王绪轶博士、师兄张登科博士、师兄王育红博士、师姐周旭辉博士、师姐夏卫萍硕士。感谢我的同门学友王传升，感谢肖宁、胡义秋、王继才、刘勇、王纯、李凌、刘海洪、郝以辉、房茂盛、俞妍、盖建芳以及中南大学湘雅医学院 06 级博士 10 班的全体同学，感谢你们给予我的帮助，在我同窗生活的记忆里，有着你们的欢歌笑语与洒脱。

感谢父母，感谢我的妻子，感谢我的兄长，是你们的默默支持，才使我顺利的完成了学业，深深谢意，难以言表。感谢女儿，给我带来会心的欢笑和快乐。

衷心感谢所有给予我支持、关心和照顾却未能一一列出的人们，感谢他（她）们对我无私的帮助！

攻读博士期间发表的学术论文及参研项目

发表论文:

1. **Dong Cao**, Lin Xu, Jun Cao and Wei Hao. Acute opioid withdrawal enhances combinatorial plasticity in the rat hippocampal CA1 *in vivo*. (in preparation)
2. Hui-Li Han, Zhi-Fang Dong, Qi-Xin Zhou, **Dong Cao**, Wei Hao, Lin Xu¹ and Jun Cao. Inhibitory long-term depression in the hippocampus is adapted to opioid addiction with a combinatorial plasticity mechanism. *Hippocampus*. (in press)
3. 曹栋, 郝伟. 饮酒行为的文化心理探源[J]. 中国医学伦理学, 2007, 20(4): 69-70.
4. 郝伟, 曹栋, 于欣. 我国饮酒现状及相关问题. 中国药物依赖性杂志, 2007, 16 (3): 193-197
5. 曹栋, 曹军, 郝伟, 徐林. 在体大鼠海马 Schaffer-CA1 条件化双通路与海马组合突触可塑性. 动物学研究. (已接受)
6. 曹栋, 曹军, 徐林, 郝伟. 吗啡剂量及给药方式对大鼠运动敏感化的影响. 中国临床心理学杂志. (已接受)

参研项目:

1. 973 项目 (2003CB515403): 依赖和复发神经核团确定及其递质改变
2. 国家自然科学基金项目 (30370522): 吗啡依赖与复吸的神经可塑性的相关机制研究