

大鼠配对前经历吗啡成瘾及戒断对子代焦虑样行为产生的机制

罗雁威 曹文字 徐杨 钟小林 王雪琴 段娟 李芳 张建一 李昌琪

【摘要】 目的 探讨亲代大鼠配对前经历吗啡成瘾及戒断对子代焦虑样行为产生的机制。**方法** 选用 8 周 Sprague-Dawley 大鼠(雌雄各半)建立吗啡依赖模型,自然戒断 21 d 后配对分组合笼,同时建立生理盐水对照组。子代鼠 8 周时,雌雄各 5 只取脑通过 Golgi-Cox 染色观察子鼠海马 CA1 区神经元树突形态情况;另外,子代鼠雌雄再各取 5 只,深度麻醉后取海马组织作全基因组表达谱分析。**结果** 吗啡成瘾组子代海马 CA1 区神经元基树突分支总长度和基树突分支个数低于对照组子代($P < 0.05$);吗啡成瘾组子代与对照组子代相比,雄性子代鼠共同表达 2 倍上调的有 663 个基因,共同表达 2 倍下调的有 449 个基因,雌性子代鼠共同表达 2 倍上调的有 350 个基因,共同表达 2 倍下调的有 188 个基因;其中与情绪行为调节相关的基因有:5-HT_{2c} 受体上调 7 倍,Igf-2 上调 7.1 倍,reltin 表达下调 3.3 倍。**结论** 亲代经历吗啡成瘾戒断导致子代海马 CA1 区神经元树突发育不良,5-HT_{2c}、Igf-2、reltin 等基因表达异常,这可能是子代焦虑样行为产生的原因。

【关键词】 吗啡成瘾; 戒断; 焦虑样行为; 基因芯片; 海马; 子代

Mechanism of adult offspring rats' anxiety-like behavior induced by morphine addiction and withdrawal in parents before mating LUO Yan-wei, CAO Wen-yu, XU Yang, ZHONG Xiao-lin, WANG Xue-qin, DUAN Juan, LI Fang, ZHANG Jian-yi, LI Chang-qi. Department of Anatomy and Neurobiology, School of Basic Medical Science, Center South University, Changsha 410013, China

【Abstract】 Objective To explore the possible mechanism of adult offspring rats' anxiety-like behavior induced by parents experienced morphine addiction and withdrawal. **Methods** Establishing the model of Sprague-Dawley rats morphine addiction, Male and female rats were mated after morphine withdrawal 21 days. Meanwhile, saline control group was established in the same method. 5 female and 5 male offspring's brains were obtained to observe the neuronal morphology of hippocampal CA1 through Golgi staining when they were 8 weeks old, the same number of female and male's hippocampus were derived after deeply anesthetized to perform the whole genome expression profiles analysis. **Results** The total length and the number of basal dendrites branches on hippocampal CA1 neurons in offspring of morphine groups were significantly decreased compared to the offspring of saline group. Comparison with the offspring of saline group, 663 up-regulated genes (ratios ≥ 2.0) and 499 down-regulated genes (ratios ≤ 0.5) were detected in the male offspring of morphine groups, and 350 up-regulated genes (ratios ≥ 2.0) and 188 down-regulated genes (ratios ≤ 0.5) were done in the female. Furthermore, they included many genes associated with regulation of emotional behavior, such as 5-HT_{2c} receptor up-regulation 7-fold, Igf-2 up-regulation 7.1-fold and reltin down-regulation 3.3-fold were observed. **Conclusion** Experienced morphine addiction and withdrawal in parents prior to mating leads to dysplasia of dendritic morphology in hippocampal CA1 neurons of adult offspring rats, and 5-HT_{2c}, Igf-2, reltin expressing abnormally, which may be the possible mechanism of anxiety-like behavior in adult offspring rats.

【Key words】 Morphine addiction; Withdrawal; Anxiety-like behavior; Gene chip; Hippocampus; Offspring

毒品成瘾即使戒断后也会严重影响人的身心健康,而且影响持久,甚至会影响到下一代的脑结构和行为的改变。不同年龄层次的吗啡暴露对子代的影响也会不同,母鼠孕期给予吗啡暴露可导致子代认知行为的缺失^[1];母鼠青春期吗啡成瘾后戒断可使子代产生焦虑样行为,对新环境的探索能力也有所降低^[2]。前

期研究发现,成年大鼠配对前经历吗啡成瘾及戒断,导致子代鼠社会交往能力下降,并且影响子代下丘脑室旁核催产素的表达下调^[3];子代产生焦虑样行为,但对学习记忆无明显影响^[4];杏仁核、前扣带皮质、前额叶皮质和海马等脑区都与成瘾引起的大鼠情绪行为有关^[5],已有的研究发现亲代大鼠在经历吗啡成瘾后,不仅其本身海马 CA1 区的突触结构发生改变^[6],其子代海马 CA1 的突触结构也发生了变化^[1],可见海马 CA1 区在与成瘾相关的焦虑情绪中有重要作用,但是亲代大鼠配对前经历吗啡成瘾及戒断对子代的 CA1 区神经元树突的具体形态学变化情况仍然不清楚,所以我们选择观察子代 CA1 区的树突形态学改变,以期

DOI:10.3760/cma.j.issn.1674-6554.2012.06.007
基金项目:国家自然科学基金项目(30971533)
作者简介:410013 长沙,中南大学基础医学院人体解剖学与神经生物学系
通信作者:李昌琪,Email:lichangqi2003@163.com

获得相关数据探讨子代行为学改变的可能机制。同时,不管亲代在哪个年龄层次经历吗啡成瘾和(或)戒断,其对子代行为的影响机制仍然不十分清楚。本实验在前期研究的基础上,采用成年大鼠在配对前给予盐酸吗啡腹腔注射,建立吗啡成瘾的动物模型,自然戒断 21 d 后进行配对合笼。待子代鼠成年后,采用高尔基染色分析子代鼠海马 CA1 区神经元树突的形态学改变,并取子代鼠海马组织通过全基因组表达谱芯片分析从基因水平探索这一影响的可能机制。

材料与方法

一、材料

1. 动物:健康 Sprague-Dawley 大鼠 40 只(雌雄各半)作为亲代大鼠,由中南大学动物学部提供,动物合格证号:scxk(湘)2009-0012。8 周龄,体质量 200 ~ 220 g,单笼饲养,动物室通风良好,室温 24℃,光照周期为 8:00 am ~ 8:00 pm,自由摄食饮水。在动物室适应饲养 1 周后开始实验。

2. 主要试剂:盐酸吗啡(沈阳第一制药厂,批号:001005);FD Rapid GolgiStain TM Kit (FD NeuroTechnologies Inc. USA);30% 过氧化氢(分析纯,湖南师范大学试剂厂);无水乙醇(湖南师范大学试剂厂);10% 水合氯醛(中南大学湘雅医院);二甲苯(上海国药集团);多聚甲醛(上海国药集团);总 RNA 抽提 Trizol 试剂盒(Gibco 公司);mRNA 抽提纯化 Oligotex mRNA midi 试剂盒(Qiagen 公司);M-MLV 酶(Gibco 公司)。

二、方法

1. 吗啡模型的建立和动物分组^[34]:在动物室适应饲养 1 周后,随机选取 20 只(雌雄各半)注射吗啡,另 20 只注射生理盐水。大鼠腹腔注射盐酸吗啡,每天 2 次,注射时间为每日上午 8:00,下午 20:00。起始剂量为 5 mg/kg,逐日递增 5 mg/kg,至第 10 天为 50 mg/kg;另 20 只以相同的方式注射同体积的生理盐水作为对照组。

动物的配对分组及子代鼠出生:在停止注射吗啡后 21 d,对亲代大鼠进行配对分组,1 组:吗啡成瘾雄鼠 + 吗啡成瘾雌鼠;2 组:吗啡成瘾雄鼠 + 生理盐水雌鼠;3 组:生理盐水雄鼠 + 吗啡成瘾雌鼠;4 组:生理盐水雄鼠 + 生理盐水雌鼠。每组 5 对大鼠,按上述分组配对合笼 14 d。每只孕鼠单笼喂养,在配对后 20 ~ 25 d,子代鼠出生。每窝子代的出产数量为 10 ~ 13 只,每组共有仔鼠 40 ~ 50 只,仔鼠出生后 1 d 称重与雌雄辨别,每组留取体重接近的雌、雄仔鼠各 10 只喂养。出生后 21 d 断乳,雌、雄分笼喂养直至成年(出生后 8 周)。

2. 子代鼠海马高尔基染色:各组子代鼠雌雄分别取 5 只,动物经 10% 水合氯醛溶液(0.35 g/kg)深度麻醉后迅速取脑,按文献^[7]进行 Golgi 染色方法,具体步骤按 FD Rapid GolgiStain TM Kit (FD NeuroTechnologies Inc. USA)的染色步骤进行染色。海马 CA1 区神

经元各形态学参数用 Neurolucida (MicroBrightField, USA)软件进行分析。

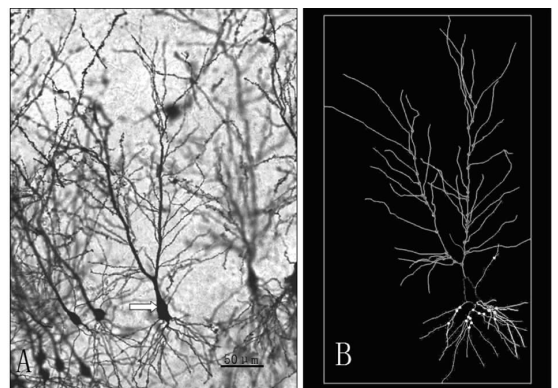
3. 子代鼠海马基因芯片分析:各组子代鼠雌雄分别取 5 只取海马组织,提取 mRNA,采用上海康成生物公司所提供的基因芯片,并由上海康成生物公司完成样本经探针标记与基因芯片杂交,荧光扫描分析,采用 Agilent Feature Extraction 软件。将吗啡组和对照组中的海马组织基因表达谱芯片扫描结果通过计算机处理,获得每个基因的信号强度值。将吗啡组/对照组比值 ≥ 2.0 判定为表达上调,比值 ≤ 0.5 判定为表达下调^[8]。

4. 数据的统计处理:所得数据均使用 SPSS 18.0 软件完成,采用单因素或多因素方差分析对数据进行分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

一、各组子代鼠海马 CA1 区的高尔基染色

子代海马 CA1 区神经元高尔基染色结果见图 1A,经过三维重建后的神经元图像见图 1B。从图像中可以清楚的看到整个神经元的基树突、顶树突、树突分支,用 Neurolucida 软件分析海马 CA1 区神经元各形态学参数显示,亲代经历吗啡成瘾和戒断因素对子代海马 CA1 区神经元基树突形态有显著影响;1,2,3 组雌、雄子代海马 CA1 区神经元基树突分枝总长度(μm)分别低于 4 组雌、雄子代,差异有统计学意义(雌 $F_{(3,13)} = 8.485$, $P = 0.002$;雄 $F_{(3,13)} = 4.988$, $P = 0.016$);1,2,3 组雌、雄子代海马 CA1 区神经元基树突分枝数分别低于 4 组的雌、雄性子代,差异具有统计学意义(雌 $F_{(3,13)} = 5.45$, $P = 0.012$;雄 $F_{(3,13)} = 3.9$, $P = 0.028$),但是 1,2,3 组雌雄子代海马 CA1 区神经元基树突树突棘密度与 4 组比较差异无统计学意义(雌 $F_{(3,13)} = 2.456$, $P = 0.109$;雄 $F_{(3,13)} = 0.354$, $P = 0.787$),1,2,3 组之间各参数差异无统计学意义($P > 0.05$),子代的性别对各参数无显著影响($P > 0.05$)。子代海马 CA1 区神经元顶树突的各参数各组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。



A: 高尔基染色神经元 (bar = 50 μm);

B: A 中箭头所示神经元三维重建后的图像

图 1 子代鼠海马 CA1 区 Golgi-Cox 染色所示锥体神经元

表 1 各组子代鼠海马 CA1 区的高尔基染色神经元树突形态学的定量分析 ($\bar{x} \pm s$)

组别		树突分支总长度 (μm)		树突分枝数 (个)		树突棘密度 (个/10 μm)	
		基树突	顶树突	基树突	顶树突	基树突	顶树突
1 组	雌	1448.4 \pm 172.1 ^a	1783.8 \pm 245.4	28.2 \pm 3.5 ^a	32.0 \pm 3.2	3.0 \pm 0.4	4.1 \pm 0.5
	雄	1177.3 \pm 60.3 ^d	1655.5 \pm 196.0	28.6 \pm 2.2 ^c	35.6 \pm 5.2	3.3 \pm 0.3	4.2 \pm 0.4
2 组	雌	1137.4 \pm 112.3 ^b	1847.8 \pm 266.7	23.0 \pm 3.5 ^b	33.0 \pm 6.2	3.1 \pm 0.4	4.0 \pm 0.3
	雄	1087.1 \pm 71.6 ^d	1800.5 \pm 264.4	23.2 \pm 3.9 ^c	34.4 \pm 5.4	3.1 \pm 0.3	4.1 \pm 0.2
3 组	雌	1300.8 \pm 122.2 ^b	2056.3 \pm 181.4	27.4 \pm 3.8 ^a	39.0 \pm 3.7	3.5 \pm 0.5	4.7 \pm 0.6
	雄	1200.0 \pm 49.8 ^d	1637.8 \pm 219.6	26.0 \pm 3.8 ^c	33.0 \pm 5.9	3.4 \pm 0.3	4.6 \pm 0.3
4 组	雌	2092.5 \pm 143.3	1941.2 \pm 176.1	41.6 \pm 2.4	36.2 \pm 4.1	3.6 \pm 0.3	4.4 \pm 0.1
	雄	1965.3 \pm 128.1	1774.1 \pm 110.3	38.6 \pm 3.4	34.2 \pm 4.7	3.3 \pm 0.5	4.1 \pm 0.08

注:与 4 组雌性子代比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与 4 组雄性子代比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$

二、基因芯片分析

1. 海马组织基因表达检测:1,2,3 组(吗啡组)子代鼠海马组织和 4 组(对照组)海马组织进行对比,将各组海马组织中的基因表达谱芯片扫描结果通过计算机进行量化,获得每个基因的荧光强度值。将吗啡组子代鼠/正常对照组子代鼠,参考以前的文献^[8]将比值 ≥ 2.0 判定为表达上调,比值 ≤ 0.5 判定为表达下调。

基因芯片结果显示,与第 4 组雄性子代鼠的海马基因表达相比,第 1 组雄性子代鼠的海马基因有 2052 个基因表达上调,1877 个基因表达下调,第 2 组雄性子代鼠的海马基因有 5514 个基因表达上调,2653 个基因表达下调,第 3 组雄性子代鼠的海马基因有 3190 个基因表达上调,2783 个基因表达下调;其中第 1、第 2、第 3 组雄性子代鼠共同表达 2 倍上调的有 663 个基因,共同表达 2 倍下调的有 449 个基因。见图 2。

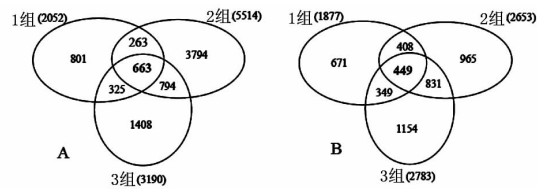


图 2 1,2,3 组子代雄鼠与 4 组子代雄鼠相比共同表达 2 倍上调和下调基因数量示意图

与第 4 组雌性子代鼠的海马基因表达相比,第 1 组雌性子代鼠的海马基因有 2532 个基因表达上调,2779 个基因表达下调,第 2 组雌性子代鼠的海马基因有 1188 个基因表达上调,1111 个基因表达下调,第 3 组雌性子代鼠的海马基因有 2866 个基因表达上调,3211 个基因表达下调;其中第 1、第 2、第 3 组雌性子代鼠共同表达 2 倍上调的有 350 个基因,共同表达 2 倍下调的有 188 个基因。见图 3。

对第 1、第 2、第 3 组子代鼠海马部位与第 4 组子代鼠海马部位相比共同表达上调与下调基因进行归类分析后,我们发现这些基因与转录调节、信号转导、受体结合蛋白、代谢、细胞骨架蛋白等有关。在这些共同表达变化的基因中,参与表观遗传修饰的有组蛋白去乙酰化 4(Hdac4)、组蛋白去乙酰化 5(Hdac5)、胰

岛素样生长因子 2(Igf2)等,与精神行为障碍密切相关的神经递质受体有 5-羟色胺受体(5-HT)、 γ -氨基丁酸受体以及 reelin 等。见表 2。

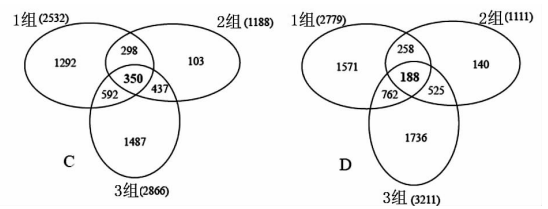


图 3 1,2,3 组子代雌鼠与 4 组子代雌鼠相比共同表达 2 倍上调与下调基因数量示意图

表 2 子代海马中与表观遗传修饰及精神行为障碍密切相关的部分基因

基因序列号	描述	变化倍数	性别/脑区	上调/下调
NM_012765	5 羟色胺受体 2C	7.00	雌、雄/海马	上调
NM_021841	γ 氨基丁酸受体	3.08	雄/海马	上调
NM_031511	胰岛素样生长因子 2	7.11	雄/海马	上调
NM_030999	促肾上腺皮质激素释放激素受体 1	2.68	雌/海马	上调
XM_343162	甲基化 CpG 结合域蛋白 3	2.08	雌、雄/海马	上调
XM_3433629	组蛋白去乙酰化酶 4	3.41	雌、雄/海马	上调
XM_213469	组蛋白去乙酰化酶 5	2.34	雌、雄/海马	上调
NM_017096	γ 氨基丁酸受体 $\alpha 3$	0.47	雌/海马	下调
BF_281544	络丝蛋白	0.29	雌、雄/海马	下调
S66250	γ 盐皮质激素受体	0.29	雌、雄/海马	下调
NM_001013032	神经肽 Y 受体 Y1	0.48	雌/海马	下调

讨 论

以前的研究发现,配对前亲代经历吗啡成瘾和戒断事件导致成年子代鼠社会交往能力下降,焦虑样行为增加^[3-4]。现在的研究表明,亲代双方成瘾和亲代单方(父或母)成瘾组所产子代鼠不管是雄性还是雌性,其海马 CA1 区神经元基树突总长度和分枝数明显低于对照组(双方正常)子代,但各组间基树突树突棘密度差异无统计学意义;各组间子代海马 CA1 区神经元顶树突的各参数各组比较差异无统计学意义。情绪行为的产生会受到性别差异的影响,如雌激素、催产素,也有研究表明亲代母鼠经历吗啡成瘾的雌雄子代在适应新环境和条件位置偏好等行为上有所不同^[9],所以在观察子代海马 CA1 区神经元形态时,将雌雄分开比较,但是所有实验组的雌雄子代的神经元基树突

总长度和分支个数明显低于对照组(双方正常)子代,由此推测其子代都受到了亲代吗啡成瘾和戒断经历的影响,并且焦虑样行为的产生机制有可能相类似。因为本次研究在分组上包括了亲代雌雄双方成瘾组(1组),亲代雄性单方成瘾组(2组),亲代雌性单方成瘾组(3组),这3个实验组不管是亲代双方成瘾和亲代单方(雌或雄)成瘾,都导致子代出现海马 CA1 区神经元树突发育不良,虽然也有可能在其他脑区出现不一样的情况。

杏仁核、前扣带皮质、前额叶皮质和海马都与大鼠的情绪行为有关,海马与吗啡引起的情绪相关行为最为密切,亲代大鼠在经历吗啡成瘾后,不仅亲代本身海马 CA1 区的突触结构发生改变^[6],其子代海马 CA1 的突触结构也发生了变化^[1],可见海马 CA1 区在与成瘾相关的焦虑情绪中有重要作用,并且有可能在跨代遗传中也发挥作用。孕期母鼠暴露于可卡因、吗啡等毒品会导致子代脑结构发育异常,海马神经元突触可塑性的改变^[10]。经历长期负性事件后,大鼠可能会通过增加突触后的树突表面积和突触接受周围神经元接入点,以增加获得的信息量来适应环境^[11],吗啡戒断对大鼠来说是一种强烈的应激,而海马是介导应激反应的神经环路的重要组成部分,其神经元的顶树突和基树突接收许多兴奋性突触连接,遗传和表观遗传的因素可以改变神经元树突的形态和突触前后蛋白的定位,已有研究发现海马 CA1 区棘突致密物增加,可使大鼠的焦虑样行为减少^[12];深度脑刺激大鼠前额叶皮质使其锥体神经元的顶树突和基树突总长度增加,并观察到焦虑样行为减少^[13],说明神经元树突的可塑性焦虑样行为关系密切。新生大鼠毁损腹侧海马可导致其成年后产生行为和认知的异常,前额叶皮质(PFC)第三层锥体细胞基树突总长度、分枝数和树突棘密度显著降低;伏隔核(NAc)的中型多棘细胞树突棘密度明显下降。提示缺少腹侧海马兴奋性纤维投射可能导致 PFC 和 NAc 神经元可塑性的改变,从而对大鼠的行为产生影响^[14]。本研究发现配对前亲代经历吗啡成瘾和戒断事件的子代海马 CA1 区基树突总长度和基树突分枝数明显减少,可能导致海马获取其他脑区,如前额叶皮质、杏仁核或伏核,信息的纤维减少,使其他脑区的信息不能及时被海马处理,致使子代大鼠不能适应新颖环境的刺激,从而导致焦虑样行为产生和社会交往能力下降;树突棘密度与学习记忆行为更为密切^[15],本次试验也没有发现其子代海马神经元树突棘的变化,与以前研究发现其子代学习记忆没有明显影响相一致^[3]。结果提示大鼠配对前经历吗啡成瘾及戒断导致子代产生焦虑样行为与亲代经历吗啡成瘾与戒断后导致子代的海马 CA1 区神经元基树突发育不良有关。

基因芯片结果显示,亲代双方成瘾和亲代单方(雌或雄)成瘾组雄性子代鼠共同表达 2 倍上调的有

663 个基因,共同表达 2 倍下调的有 449 个基因;雌性子代鼠共同表达 2 倍上调的有 350 个基因,共同表达 2 倍下调的有 188 个基因。这些差异基因功能大多与转录调节,信号转导,细胞骨架,物质代谢,神经递质—受体途径,细胞凋亡,蛋白质降解,细胞周期等有关。本次研究的基因芯片结果显示,子代海马 5-HT_{2c} 受体上调 7 倍。有研究发现,过表达 5-HT_{2c} 受体的转基因小鼠大脑皮质、海马和杏仁核 5-HT_{2c} 受体的 mRNA 水平上调,致使前脑 5-HT_{2c} 配体的结合位点数量上调一倍以上,并观察到小鼠在高架十字迷宫中表现出焦虑样行为增加和在新颖环境中活动度减少,说明 5-HT_{2c} 受体信号通路在焦虑行为中起到重要作用。成瘾会导致 5-HT 功能的紊乱^[16],延长吗啡撤药会降低背侧中缝核 5-HT 的活性,使对百忧解敏感的情绪行为会随撤药时间的延长而加强,5-HT 功能的紊乱可能是阿片类药物引起的精神失常的主要机制之一^[17]。本次研究中亲代(雌或雄)在经历吗啡成瘾及戒断后,由于戒断引起的情绪应激可能会通过表观遗传修饰影响到下一代^[18]。应激引起的亲代脑内 5-HT 代谢或激活干扰,可能会干扰母亲与子代的正常接触和交流,从而影响到子代大脑的发育,在成年时引起 5-HT 相关的精神疾病。而这种异常的行为交流可能通过基因的表观遗传学修饰引起子代在应激状态下下丘脑垂体肾上腺轴(HPA)反应的异常^[19]。有研究就发现,出生前由于基因和环境因素的相互作用导致的有焦虑、抑郁样行为和社会行为改变的小鼠,伴有下丘脑-垂体-肾上腺轴反应的降低,海马中 5-羟色胺神经递质释放紊乱和海马颗粒细胞树突棘致密物的减少^[20]。而正常的母爱行为可以激活 5-HT 受体和 cAMP,从而激活 PKA 和 CREB,促进神经生长因子 I-A(NGFI-A)转录因子的表达并最终增加海马糖皮质激素受体(GR)的表达,提高子代海马 5-HT 的更新代谢率^[21]。本研究模型中亲代(雌或雄)在配对前经历吗啡成瘾及戒断后,可能也会影响子代海马 5-HT 代谢更新异常,导致 5-HT_{2c} 受体上调,引起焦虑样行为的产生。我们在其子代的基因芯片分析中也发现,雌雄子代共同表达上调和下调的基因中转录基因和代谢基因也占了大部分,推测可能与 5-HT 代谢更新异常有关。

reelin 的表达与成年子代的早期生活经历有关,人的遗传性的小脑发育不全与 reelin 基因突变有关,GA-Ba 能递质系统和 reelin 系统的调节紊乱是精神分裂症的病因学和病理生理学的易感因素。皮质 GABA 能中间神经元合成 reelin 并将其分泌到细胞外基质, reelin 与海马锥体细胞树突轴和棘突突触后致密物的整合蛋白受体高亲和力结合,并能激活骨架蛋白合成。reelin 在调节神经元迁移,树突分支,突触形成和轴突修剪的过程中起重要作用,并且参与整个生存过程的突触可塑性调节^[22]。本研究发现 reelin 在雄性和雌性子代海马中都表现出显著下调,推测可能导致了海

马神经元树突形态发生了改变。

组蛋白去乙酰化(HDAC)抑制剂可以引起独立复制的 DNA 去甲基化激活,虽然这种激活的机制仍然不清楚,但是基因乙酰化的增加的确会导致去甲基化的增强^[23]。中枢神经系统注射 HDAC 抑制剂显著地增加组蛋白 H3-K9 乙酰化,胞嘧啶去甲基化,NGFI-A 与 GR 外显子 1 的启动子结合,这些对海马转录组有重要影响。NGFI-A 与外显子 1 的结合与海马 GR 的表达上调有关,更重要的是 HDAC 抑制剂处理后可以消除母爱行为对下丘脑垂体肾上腺轴(HPA)急性应激反应的影响^[24]。在母爱行为,组蛋白乙酰化,GR 启动子的外显子 1 DNA 甲基化,GR 的表达和 HPA 应激反应之间可能存在因果关系。基因芯片结果显示组蛋白去乙酰化 4 表达上调 3.4 倍,这也可能会使 GR 表达下调和 HPA 对应激反应调节紊乱,最终导致子代鼠的行为学变化。

综上所述,本次实验研究为研究亲代经历吗啡成瘾与戒断对子代行为学影响机制提供了丰富的形态学数据,结果提示亲代经历吗啡成瘾与戒断对子代焦虑样行为产生影响可能是由亲代经历吗啡成瘾与戒断后导致子代的海马 CA1 区神经元发育不良引起的,也可能与 5-HT_{2c} 更新代谢异常, reelin 表达下调有关,具体的分子生物机制还需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Lin CS, Tao PL, Jong YJ, et al. Prenatal morphine alters the synaptic complex of postsynaptic density 95 with N-methyl-D-aspartate receptor subunit in hippocampal CA1 subregion of rat offspring leading to long-term cognitive deficits. *Neuroscience*, 2009, 158:1326-1337.
- [2] Byrnes EM. Transgenerational consequences of adolescent morphine exposure in female rats; effects on anxiety-like behaviors and morphine sensitization in adult offspring. *Psychopharmacology*, 2005, 182:537-544.
- [3] 崔涛涛, 宋岭, 姚亚丽, 等. 大鼠配对前吗啡成瘾和戒断对子代社会交往与下丘脑催产素表达的影响. *神经解剖学杂志*, 2009, 25:393-398.
- [4] 宋岭, 郝伟, 崔涛涛, 等. 大鼠配对前吗啡成瘾及戒断对子代焦虑样行为和记忆的影响. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2009, 18:519-521.
- [5] 王传升, 湛红献, 张瑞岭, 等. 海洛因成瘾易感性的前额叶皮质多巴胺 D2 受体及多巴胺转运体机制. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2010, 19:817-819.
- [6] 张清清, 叶敏捷, 王瑛, 等. 吗啡依赖大鼠海马 CA1 区突触界面结构变化的易感性差异. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2010, 19:112-114.
- [7] Li CQ, Liu D, Huang L, et al. Cytosine arabinoside treatment impairs the remote spatial memory function and induces dendritic retraction in the anterior cingulate cortex of rats. *Brain Res Bull*, 2008, 77:237-240.
- [8] Liao DL, Cheng MC, Lai CH, et al. Comparative gene expression pro-

filing analysis of lymphoblastoid cells reveals neuron-specific enolase gene (ENO2) as a susceptibility gene of heroin dependence. *Addiction Biology*, 2011, 390:1569-1600.

- [9] Timar J, Sobora M, Kiraly KP, et al. Peri, pre and postnatal morphine exposure: exposure-induced effects and sex differences in the behavioural consequences in rat offspring. *Behav Pharmacol*, 2010, 21:58-68.
- [10] Yang SN, Huang LT, Wang CL, et al. Prenatal administration of morphine decreases CREBSerine-133 phosphorylation and synaptic plasticity range mediated by glutamatergic transmission in the hippocampal CA1 area of cognitive-deficient rat offspring. *Hippocampus*, 2003, 13:915-921.
- [11] Vyas A, Jadhav S, Chattarji S. Prolonged behavioral stress enhances synaptic connectivity in the basolateral amygdala. *Neuroscience*, 2006, 143:387-393.
- [12] Vyas A, Pillai AG, Chattarji S. Recovery after chronic stress fails to reverse amygdaloid neuronal hypertrophy and enhanced anxiety-like behavior. *Neuroscience*, 2004, 128:667-673.
- [13] Falowski SM, Sharan A, Reyes BA, et al. An evaluation of neuroplasticity and behavior following deep brain stimulation of the nucleus accumbens in an animal model of depression. *Neurosurgery*, 2011, 69:1281-1290.
- [14] Flores G, Alquicer G, Silva-Gomez AB, et al. Alterations in dendritic morphology of prefrontal cortical and nucleus accumbens neurons in post-pubertal rats after neonatal excitotoxic lesions of the ventral hippocampus. *Neuroscience*, 2005, 133:463-470.
- [15] Mitsui S, Osako Y, Yokoi F, et al. A mental retardation gene, motopsin/neurotrypsin/prss12, modulates hippocampal function and social interaction. *Eur J Neurosci*, 2009, 30:2368-2378.
- [16] Moranta D, Esteban S, Garcia-Sevilla JA. Chronic treatment and withdrawal of the cannabinoid agonist WIN 55,212-2 modulate the sensitivity of presynaptic receptors involved in the regulation of monoamine syntheses in rat brain. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*, 2009, 379:61-72.
- [17] Goeldner C, Lutz PE, Darceq E, et al. Impaired emotional-like behavior and serotonergic function during protracted abstinence from chronic morphine. *Biol Psychiatry*, 2011, 69:236-244.
- [18] Leret ML, Rua C, Garcia-Montojo M, et al. Influence of metyrapone treatment during pregnancy on the development and maturation of brain monoaminergic systems in the rat. *Acta Physiol (Oxf)*, 2009, 197:333-340.
- [19] Liu D, Diorio J, Tannenbaum B, et al. Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypo-thalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *Science*, 1997, 277:1659-1662.
- [20] Weaver IC. Epigenetic programming by maternal behavior and pharmacological intervention. *Nature versus nurture; let's call the whole thing off. Epigenetics*, 2007, 2:22-28.
- [21] Kimura K, Stevenson PL, Carte RV, et al. Overexpression of 5-HT_{2C} receptors in forebrain leads to elevated anxiety and hypoactivity. *Eur J Neurosci*, 2009, 30:299-306.
- [22] Dong E, Caruncho H, Liu WS, et al. A reelin-integrin receptor interaction regulates Arc mRNA translation in synaptoneuroosomes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100:5479-5484.
- [23] Cervoni N, Szyf M. Demethylase activity is directed by histone acetylation. *J Biol Chem*, 2001, 276:40778-40787.
- [24] Weaver IC, Cervoni N, Champagne FA, et al. Epigenetic programming by maternal behavior. *Nat Neurosci*, 2004, 7:847-854.

(收稿日期:2011-12-19)

(本文编辑:冯学泉)