

脂多糖免疫激活对强迫游泳应激导致的 抑郁样行为的影响^{*}

潘玉芹 林文娟 王东林 孙 菡

(中国科学院心理研究所心理健康重点实验室, 北京 100101)

摘 要 应激导致抑郁样行为的同时导致免疫激活敏感化, 但是免疫激活对应激导致的抑郁样行为的影响目前并不清楚。研究目的: 利用脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)作为外周免疫激活启动剂, 强迫游泳应激(forced swim stress)作为应激模式, 考察免疫激活背景是否影响应激导致的抑郁样行为。方法: 42 只 SD 雄性大鼠随机分为四组: LS 组(LPS + swim, $n=12$), LC 组(LPS + 空白, $n=10$), AS 组(生理盐水+swim, $n=10$), AC 组(生理盐水+空白, $n=10$)。在实验期第一天根据分组分别注射脂多糖(LPS, 50 $\mu\text{g/kg}$, 腹腔注射)或生理盐水一次, LS 组和 AS 组大鼠于注射后 2 小时进行第一次游泳应激, 此后持续应激 2 周。分别在应激一次后, 应激 2 周, 应激结束后 1 周和应激结束后 2 周测定大鼠的糖水偏爱、旷场行为和高架十字迷宫行为。结果显示: 应激一次后, 应激 2 周, 应激后 1 周 LS 组大鼠与 AC 组相比较, 糖水偏爱分数, 旷场中的水平活动显著下降; 应激 2 周, AS 组大鼠相对于 AC 组大鼠的糖水偏爱分数以及旷场中的水平活动都显著下降, 结论: 慢性强迫性游泳应激导致抑郁样行为, 应激前 LPS 免疫激活能够促使应激导致的抑郁样行为更容易出现, 症状加剧, 并持续较长的时间。

关键词 脂多糖; 强迫游泳应激; 抑郁样行为; 糖水偏爱; 旷场行为; 高架十字迷宫

分类号 B845

1 前言

抑郁障碍是目前导致人类身心健康的主要杀手之一, 对于抑郁症状形成的病理机制的研究是攻克抑郁障碍的主要手段。长期以来对于抑郁症机制的研究多集中于应激导致的多种神经生理生化的改变, 如: 下丘脑-垂体-肾上腺素轴(hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA 轴)、5-羟色胺和去甲肾上腺素系统激活, 突触可塑性和神经生长改变等。近年来“抑郁症细胞因子假说”的提出为抑郁障碍的病因学研究提供了一个新的方向。很多研究发现应激也导致中枢和外周免疫系统的紊乱, 特别是信号分子——细胞因子的改变。慢性温和应激导致下丘脑肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α) 和白细胞介素-1 (Interleukin -1, IL-1) 以及垂体

TNF- α 增加 (Grippo, Francis, Beltz, Felder, & Johnson, 2005)。同时免疫激活诱发与应激相似的神经生理生化的改变和行为效应。动物研究发现外周注入脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS), 一种免疫激活剂, 可以引起免疫炎性激活, 诱导多种炎症细胞因子如 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的分泌(邝雪莹等, 2011), 并可以诱导啮齿类动物 HPA 轴激活, 影响下丘脑和外侧下丘脑的单胺能和肽能神经递质的改变 (Dantzer, 2004, 2009; Anisman, Merali, & Hayley, 2008), 导致快感缺乏和活动性下降, 并且抗抑郁药能够缓解这些症状。但这种神经生化和抑郁样行为并不能持续较长的时间 (Engeland, Kavaliers, & Ossenkopp, 2006; Song, Hoebein, & Leonard, 2006; 潘玉芹, 林文娟, 王东林, 2007)。临床中观察到很多应用细胞因子免疫治疗的患者表

收稿日期: 2011-03-24

^{*} 国家自然科学基金项目(31170987)国家自然科学基金项目(30770718)资助。

通讯作者: 林文娟; E-mail: linwj@psych.ac.cn, 电话: (010)64853723

现出一系列抑郁样症状,而这些症状可以通过抗抑郁药缓解(Capuron, Hanser, Hinze-Selch, Miller, & Neveu, 2002)。因此,外周免疫激活和应激具有共同的特征,可能在抑郁症状的形成中具有相互增强作用,而外周的免疫激活由于其短效性,可能在其中具有一定的启动和加强作用。

目前关于应激和免疫激活的很多研究发现,急性慢性应激能够协同增强或辅助免疫激活导致的细胞因子分泌、行为和神经生化改变。例如电击应激导致随后 LPS 诱导的细胞因子产生敏感化(Johnson et al., 2002);一次鼠尾电击之后 1~4 天内,利用低于启动剂量的 LPS 能够导致小鼠的中枢和外周细胞因子的升高和 HPA 轴激活,而这种作用可能是通过脑内 IL-1 介导的(Johnson, O'Connor, Watkins, & Maier, 2004)。在小鼠的研究中发现,2~4 周的社会分离应激协同激活随后的 LPS 诱导的中枢和外周的细胞因子产生及外周糖皮质激素分泌和病态行为的产生(Gibb, Hayley, Gandhi, Poulter, & Anisman, 2008)。但是这些研究多集中于在应激背景下,免疫激活对免疫,神经生化和行为的影响。而在免疫激活下,应激对抑郁行为的影响鲜有报道。作者猜测免疫激活与应激可能具有相同的神经通路,两者之间可能具有交叉敏感化,协同影响抑郁障碍的发生,而细胞因子可能是共同的基础。强迫游泳应激是常用的应激模型,将动物放在一个不可逃脱的环境中强迫其不停游动,动物的不动行为表示了动物抑郁中的绝望行为。本研究采用的强迫冷水游泳应激,是利用冷水的生理应激和强迫游泳的绝望心理应激共同作用构造的慢性生理心理

应激模型。因此本研究以 LPS 作为外周免疫启动剂,强迫游泳应激作为应激模式,考察一次免疫启动背景下,免疫激活对慢性应激诱导的抑郁样行为的易感性,严重程度和恢复的影响,以期对免疫激活的细胞因子在抑郁障碍中的作用做进一步探讨。

2 材料和方法

2.1 实验动物

实验选用 SPF 级健康的雄性 Sprague-Dawley (SD)大鼠 42 只,体重 250 g 左右(由北京维通利华实验动物技术有限公司提供),将动物置于 25 cm × 22.5 cm × 30 cm 的不锈钢笼中单笼饲养,24 小时自由摄食和饮水,每笼放置一瓶饮用水。室温 22.0±0.5℃,相对湿度 40%~70%,光/暗周期为 12h/12h (其中光照时间为 08:00~20:00),除糖精水测验期,自由摄食和饮水。实验前给予大鼠 7 天适应期,适应期内每天接受实验主试人员 3 分钟抚摸,使其适应实验主试人员的操作。适应期结束时称量并记录动物重量。所有实验步骤均遵守国家动物管理和使用规则。

2.2 实验程序和分组

将 42 只大鼠随机分为 4 组:LS 组(LPS + swim, n=12), LC 组(LPS + 空白, n=10), AS 组(生理盐水 + swim, n=10), AC 组(空白 + 生理盐水, n=10)。根据分组情况,在试验期第一天 08:00am LS 和 LC 组腹腔注入 LPS (50 ug/kg), AS 和 AC 组大鼠腹腔注入生理盐水, 10:00am, LS 和 AS 组大鼠接受强迫游泳应激, 5min/rat, 1 次/天,持续 14 天。具体实验程序见表 1。

表 1 实验程序

实验期(天)	LS 组	LC 组	AS 组	AC 组
1 st	LPS 腹腔注射+强迫游泳应激	LPS 腹腔注射	生理盐水腹腔注射+强迫游泳应激	生理盐水腹腔注射
2 nd	行为测试; 强迫游泳应激	行为测试	行为测试; 强迫游泳应激	行为测试
3 rd -14 th	强迫游泳应激		强迫游泳应激	
14 th			行为测试	
21 st			行为测试	
28 th			行为测试	

2.3 强迫冷水游泳应激

将一只大鼠放入 100 cm × 50 cm × 100 cm 的水池中游泳,游泳过程中保持水深 30 cm,水温 10℃ 左右,每次持续 5 min。游泳后将大鼠用毛巾抹干放回笼中。

2.4 试剂

脂多糖(lipopolysaccharide, LPS, *Escherichia coli* serotype 055:B5, 来自 Sigma 公司)在注射前一晚溶于无菌生理盐水(购自北京双鹤药业有限公司)中,浓度为 100 ug/ml,放置 4℃ 冰箱保存待用。

2.5 行为观察

依次进行糖水偏爱、旷场行为和高架十字迷宫行为测试。

2.5.1 糖水偏爱测试 在测试前对动物进行 20 小时的饮水剥夺,然后在测试当天将动物暴露于两个瓶子下(一个装自来水,一个装 0.5%糖水溶液)共 30 分钟,测试在此期间动物对自来水和糖精水的消耗量,并计算糖水溶液占摄入总液体的百分比,作为动物糖水偏爱分数。

2.5.2 旷场行为测试 采用 open-field 旷场(直径为 1.8 米,高 50 厘米的圆形铁皮桶,四周涂以黑漆),摄像机对大鼠的行为进行摄像。每只大鼠观察 5 分钟。观察指标主要包括水平活动和直立行为。水平活动以动物在旷场中的活动距离作为计算指标(单位:cm);直立行为评定采用直接观察记录整个过程的发生次数的方法。

2.5.3 高架十字迷宫行为测试 每次旷场行为测试后对大鼠进行高架十字迷宫测试。将大鼠放置在中央平台上,面对同一个闭臂,用 MED-PC 系统记录 5 分钟大鼠的行为指标。包括:开放臂进入次数;闭合臂进入次数;开放臂停留时间;闭合臂停留时间。

2.6 数据统计

实验中 1 只大鼠死亡,41 只大鼠进入数据统计,所有数据采用 SPSS 10.0 for windows 统计软件处理。以处理(应激、LPS 注射)作为组间变量,时间为组内变量做重复双因素方差分析,每个时间点的各组大鼠的行为比较采用单因素方差分析,事后检验采用最小显著差法(Least-significant difference, LSD)。

3 结果

3.1 糖水偏爱测试

重复双因素方差分析显示:处理和时间因素对大鼠糖水偏爱的影响都存在显著主效应: $F(3,37) = 4.339, p < 0.01$, $F(4,148) = 3.615, p < 0.01$,而时间 $\times$ 处理的交互效应不显著。LSD 结果显示:LS 组大鼠相对于空白对照组大鼠,在应激一次、应激 2 周、应激结束后 1 周和应激结束后 2 周糖水偏爱分数下降($p < 0.05$),而单纯应激组大鼠在应激 2 周和应激结束后 1 周,相对于空白对照组,糖水偏爱分数也下降($p < 0.05$) (结果见图 1)。而外周 LPS 注射和(或)强迫性冷水游泳应激对大鼠的总饮水量没有影响。

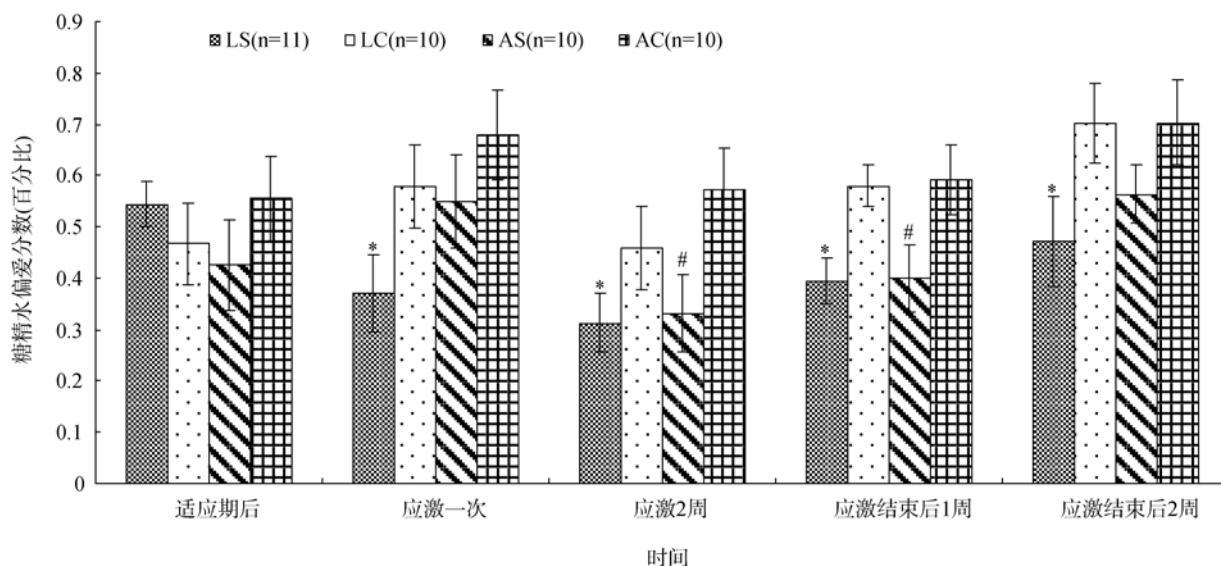


图 1 外周注射 LPS 对强迫性游泳应激诱导的糖水偏爱影响($M \pm SE$)单位: 百分比

注: LS: LPS + swim; LC: LPS + 空白对照; AS: 生理盐水 + swim; AC: 生理盐水 + 空白对照。*表示 LS 组与 AC 组比较, $p < 0.05$, #表示 AS 组与 AC 组比较, $p < 0.05$; $\bar{x}$ 表示该组数据平均值的标准误。

3.2 旷场行为测试

重复双因素方差分析显示:处理和时间因素对大鼠的水平活动具有显著影响(处理主效应: $F(3,37) =$

$7.176, p < 0.01$, 时间主效应: $F(4,148) = 8.200, p < 0.01$),而时间 $\times$ 处理的交互效应不显著。LSD 结果显示:LS 组大鼠相对于空白对照组,在应激一次、

应激 2 周和应激结束后 1 周旷场测验中的水平活动显著下降($p<0.01$); 而 AS 组大鼠相对空白对照组, 在应激 2 周时水平活动也显著降低 ($p<0.01$) (结果见图 2)。而外周注射 LPS 和强迫性冷水游泳应激对大鼠的直立行为没有影响。

3.3 高架十字迷宫行为测试

重复双因素方差分析显示: 时间因素对大鼠的

闭臂进入具有显著影响(时间主效应: $F(4,148)=9.074$, $p<0.01$), 而处理主效应和时间 $\times$ 处理的交互效应不显著。LSD 结果显示: LS 组大鼠相对于空白对照组和 AS 组在应激一次后闭臂进入次数显著减少($p<0.01$) (结果见图 3)。外周注射 LPS 和强迫性冷水游泳应激对于大鼠的闭合臂停留时间, 开放臂进入次数和开放臂停留时间没有影响。

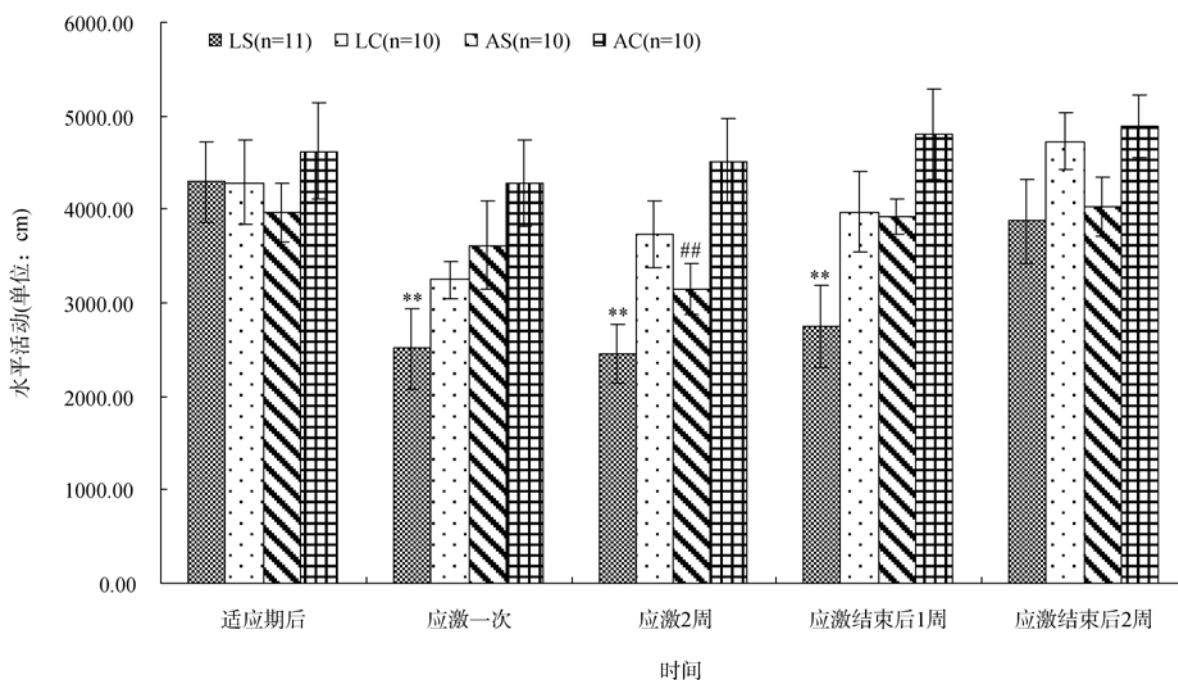


图 2 外周注射 LPS 对强迫性游泳应激导致的水平活动的影响($M\pm SE$) 单位: cm

注: LS: LPS + swim; LC: LPS + 空白对照; AS: 生理盐水 + swim; AC: 生理盐水 + 空白对照。**表示 LS 组与 AC 组比较, $p<0.01$, ##表示 AS 组与 AC 组比较, $p<0.01$ 。┐表示该组数据平均值的标准误。

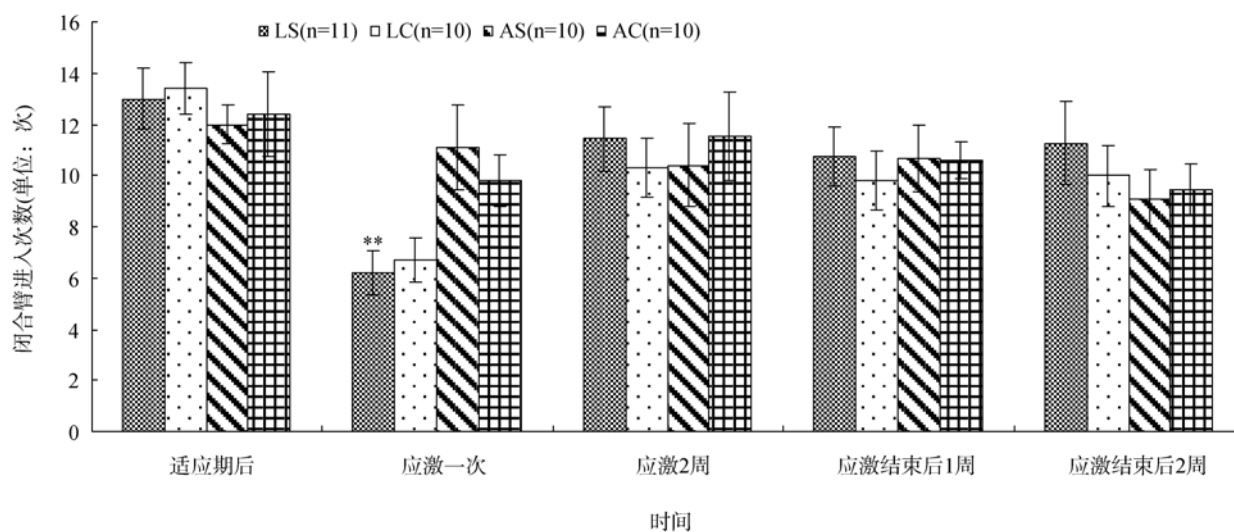


图 3 外周注射 LPS 对强迫性游泳应激导致的闭合臂进入次数的影响($M\pm SE$)单位: 次

注: LS: LPS + swim; LC: LPS + 空白对照; AS: 生理盐水 + swim; AC: 生理盐水 + 空白对照。**表示 LS 组与 AC 组比较, $p<0.01$, ※表示 LS 组与 AS 组比较, $p<0.05$ 。┐表示该组数据平均值的标准误。

4 讨论

4.1 应激对大鼠抑郁样行为的效应

强迫冷水游泳应激中包含了动物在冷水中所受的生理应激以及面对生存威胁时求生、绝望等造成的心理应激,目前它被认为是经典的抑郁动物模型。本研究结果显示在应激一次的情况下,与空白对照组大鼠相比,单纯应激组的行为没有显著性改变,而持续两周的应激可导致大鼠的糖精水偏爱分数和水平活动都显著下降,但是这种行为变化不能持续到应激结束后一周。这些研究结果表明,单纯一次急性强迫性冷水游泳应激不能诱导大鼠产生抑郁样行为,而持续 14 天的慢性强迫性冷水游泳应激可以导致大鼠出现明显的快感缺乏和活动下降,诱发显著的抑郁情绪,但是这种情绪行为障碍在自然状态下很快恢复。以往的研究结果也显示,慢性强迫性冷水游泳应激能够导致大鼠的糖精水偏爱下降,旷场自主活动增加,漂浮行为增加等(Qi et al., 2008; Mathews, Wilton, Styles, & McCormick, 2008),与本研究结果一致。关于应激与情绪障碍的关系,虽然不同的研究者采用的应激范式不同,但他们的研究结果大都证明应激能够导致动物的情绪障碍。例如慢性不确定性温和应激能够导致大鼠的糖精水偏爱下降,母爱剥夺、社会交往剥夺等能使动物在旷场中的活动降低,与本研究结果一致(Simmons & Broderick, 2005)。本实验利用慢性应激模型,较好的模拟了抑郁症的临床特点,具有较好的表面效度。同时,强迫游泳模型还是用于抗抑郁药疗效预测的一个最好的模型。强迫性游泳动物表现出 5-羟色胺功能紊乱(Kirby, Chou-Green, Davis, & Lucki, 1997),HPA 轴激活和神经可塑性的变化,并通过激活 MAPK/ERK 通路诱导抑郁样行为(Qi, Lin, Li, Pan, & Wang, 2006)。因此利用慢性强迫性游泳应激模型作为抑郁动物模型考察抑郁样行为的形成机制具有很好的表面效度和预测效度。

4.2 LPS 免疫激活对应激所致的抑郁样行为产生的效应

LPS 是一种免疫启动剂,能够启动免疫激活,诱导炎症细胞因子合成和释放增加,并产生类似于行为性抑郁的病态行为。本实验结果显示:外周一次 LPS 注射后 24 小时、两周、三周和四周并没有诱导大鼠出现抑郁样行为。这一实验结果与以前的研究结果一致(潘玉芹等, 2007)。说明外周免疫激活

不能产生长时程的抑郁样行为,在抑郁症的发病机制上可能只是一个诱因或者是共病的一个因素(Anisman et al., 2008)。而 LPS 诱导的外周免疫激活和促炎性细胞因子增加可能导致随后急性和慢性应激诱导的抑郁样情绪行为加剧。

外周免疫激活使得动物对应激导致的抑郁样行为易感性增加。本实验结果显示:单纯一次急性应激不能引起明显的行为效应,而一次急性应激前,外周注射 LPS 则可观察到联合处理的大鼠出现明显的糖精水偏爱下降,水平活动下降等抑郁样行为改变,说明外周注入 LPS 使急性应激导致的抑郁样行为更容易出现,提示外周激活的前炎症细胞因子可能对应激导致的抑郁样行为产生具有启动作用。但是有研究发现 15 分钟的 25°C 的强迫游泳测试前 2 小时外周注入 LPS 并不能导致大鼠的漂浮行为增加(Deak et al., 2005)。这与本实验的结果不同,原因可能是应激的强度不同和行为测试的指标不同有关。在本实验中,游泳应激的水温是 10°C,相对于 Deak 等研究者所用的 25°C 的水温应激强度要高一些,有研究认为较高强度的急性应激可以导致外周或脑内的细胞因子增加。如鼠尾电击应激可导致大鼠应激脑区,如下丘脑,海马,垂体的 TNF- α 的含量增加(O'Connor et al., 2003);社会隔离使中枢 TNF- α 的分泌增加(Avitsur, Kavelaars, Heijnen, & Sheridan, 2005);束缚应激导致外周和中枢的 IL-6 mRNA, 以及海马区 IL-1 β mRNA 和皮质的 TNF- α 含量的增高(Madrigal et al., 2002; Minami et al., 1991)。而相对较为温和的应激,如:掠食者暴露和活动限制不能导致大鼠的外周和中枢 IL-1 β 的变化(Quan, He, Lai, Shen, & Herkenham, 2000);一次 15 分钟的 25°C 的强迫游泳应激也不能导致外周和中枢的细胞因子变化(Deak, Bellamy, & D'Agostino, 2003)。另一方面,就行为指标而言,快感缺乏和活动下降是抑郁症的核心症状,也是评价抑郁动物模型的表面效度的主要指标和较为敏感的指标。而绝望行为虽然在抑郁模型中具有较好的预测效度,但是在一些应激模型中动物并不表现出绝望行为。因此外周注入 LPS 并不增加大鼠在强迫游泳应激中的漂浮行为,却可以导致急性应激大鼠的糖精水偏爱分数和旷场行为中的水平活动显著下降,说明外周免疫激活可能更多地参与了快感缺乏和活动性下降等核心抑郁行为的形成。而外周免疫激活对急性应激诱导的抑郁样行为的启动作用可能反映了两者之间具有交叉敏感化效应,通过共同的通路导

致抑郁症状的产生, 其机制可能与脑内的细胞因子有关。因为以往的研究发现先前一次不可逃避性鼠尾电击应激可以使低于免疫启动剂量的 LPS (10 μ g/kg) 诱导出外周和脑内的细胞因子水平显著增加和 HPA 轴激活, 而这种敏感化效应正是通过脑内 IL-1 介导的(Johnson et al., 2002, 2004)。

同时本研究发现, 应激两周后, LS 组大鼠表现出糖水偏好和旷场活动性显著下降, 虽然与单纯应激组大鼠之间没有显著差异, 但是具有加重的趋势, 表明应激前免疫激活对慢性应激导致的抑郁样行为有加重的趋势。这与黄庆军等(2004)研究发现, 在慢性不确定性应激期间, 应激前隔日注射 LPS 对大鼠的抑郁样行为具有加重趋势的研究结果是一致的(黄庆军等, 2004)。这说明免疫激活的背景下, 慢性应激更容易导致行为性抑郁, 造成的抑郁症状有加重的趋势。提示大鼠的抑郁样行为的产生与外周免疫激活有着某种联系, LPS 诱导的炎症细胞因子可能辅助性地加剧了抑郁障碍的发生。

外周免疫激活不仅使应激导致的抑郁样行为易感性增加, 并具有加重症状趋势, 而且延长了应激导致的抑郁样行为的时程或抑郁样行为的恢复。本实验结果显示: 应激结束后一周, LPS 注射和应激共同作用下的大鼠糖水偏爱分数和旷场行为中的水平活动依然显著降低, 而单纯应激组动物的抑郁样行为则已经恢复。也有研究报道, 新生期接受 LPS 免疫激活注射的大鼠, 在成年后给予束缚和隔离应激, 则表现更多的活动降低(Walker et al., 2009)。也就是说, 在相同的应激条件下, 之前有过免疫激活背景的动物抑郁样行为持续时间更长, 抑郁症状更难以自然恢复。这与临床上难以治愈或迁延不愈的抑郁症状有些类似, 其机制可能与两者之间的协同或辅助增强有关。以往的研究显示慢性应激对 LPS 免疫启动具有敏感化效应。社会应激增加 LPS 诱导的病态行为, 细胞因子和血浆糖皮质激素分泌(Gibb, Hayley, Poulter, & Anisman, 2011); 慢性束缚应激能够加强 LPS 诱导的前额叶皮质区 NF- κ B 的激活, 而 NF- κ B 是 LPS 诱导脑内细胞因子产生的一条通路(Madrighal et al, 2002); 长时间的社会应激能够增加早期免疫激活大鼠的外周糖皮质激素和 IL-1 β 水平(Carobreza, Gasparotto, Buwalda, & Bohus, 2002)。提示应激和免疫激活可能具有相同的激活通路, 应激能够使 LPS 的细胞因子应答敏感化, 我们最新研究也发现 HPA 轴的调节功能影响 LPS 诱导的抑郁行为(Wang et al., 2011)。本实验

的结果从另一方面证明了 LPS 免疫激活也能够使应激导致的抑郁样行为产生敏感化, 进一步证明抑郁行为发生中免疫激活与应激或 HPA 功能的交互敏感化作用。

有趣的是, 在高架十字迷宫测验中, 应激一次后, 在 LPS 注射和应激共同作用下的大鼠闭合臂进入次数相对于单纯应激组和空白对照组都显著减少, 也即焦虑行为减少。这些结果提示 LPS 和应激对焦虑情绪的产生可能具有不同的机制。至于 LPS 诱导的免疫激活在焦虑行为中的作用, 以往的研究认为, 中枢 IL-1 β 可能在焦虑为特征的行为反应中具有一定的抗焦虑作用, 如中枢注入 IL-1 β 能够显著抵抗新奇环境诱导的活动度增加和静止行为减少的焦虑特征行为(Montkowski, Landgraf, Yassouridis, Holsboer, & Schöbitz, 1997; 郑瑞茂, 邹长江, 祝世功, 2004)。而外周 LPS 注射可导致中枢 IL-1 β 增加, 因而具有一定的抗焦虑作用。

5 结论

LPS 外周免疫炎性激活的背景下, 细胞因子能够使应激导致的抑郁样行为更容易出现, 症状趋向严重, 持续时间更长。说明免疫激活的细胞因子可能在应激导致的抑郁样行为中有一定的启动和增强作用, 应激和细胞因子可能通过共同的机制导致抑郁样行为的产生, 但具体的机制还需要进一步研究。

参 考 文 献

- Anisman, H., Merali, Z., & Hayley, S. (2008). Neurotransmitter, peptide and cytokine processes in relation to depressive disorder: Comorbidity between depression and neurodegenerative disorders. *Neurobiology*, 85, 1-74.
- Avitsur, R., Kavelaars, A., Heijnen, C., & Sheridan, J. F. (2005). Social stress and the regulation of tumor necrosis factor- α secretion. *Brain, Behavior, Immunity*, 19, 311-317.
- Capuron, L., Hanser, P., Hinze-Selch, D., Miller, A. H., & Neveu, P. J. (2002). Treatment of cytokine-induction depression. *Brain Behavior and Immune*, 16(5), 575-580.
- Carobreza, S. G., Gasparotto, O. C., Buwalda, B., & Bohus, B. (2002). Long-term consequences of social stress on corticosterone and IL-1 β levels in endotoxin-challenged rats. *Physiology & Behavior*, 76, 99-105.
- Dantzer, R. (2004). Cytokine-induced sickness behavior: A neuroimmune response to activation of innate immunity. *European Journal of Pharmacology*, 500, 399-411.
- Dantzer, R. (2009). Cytokine, sickness behavior, and depression. *Immunology and Allergy Clinics of North America*, 29, 247-264.
- Deak, T., Bellamy, C., & D'Agostino, L. G. (2003). Exposure to forced swim stress does not alter central production of

- IL-1. *Brain Research*, 972, 53–63.
- Deak, T., Bellamy, C., D'Agostino, L. G., Rosanoff, M., McElderry, N. K. & Bordon, K. A. (2005). Behavioral responses during the forced swim test are not affected by anti-inflammatory agents or acute illness induced by lipopolysaccharide. *Behavioral Brain Research*, 160, 125–134.
- Engeland, C. G., Kavaliers, M., & Ossenkopp, K. P. (2006). Influence of the estrous cycle on tolerance development to LPS-induced sickness behaviors in rats. *Psychoneuroendocrinology*, 31, 510–525.
- Gibb, J., Hayley, S., Gandhi, R., Poulter, M. O., & Anisman, H. (2008). Synergistic and additive actions of a psychosocial stressor and endotoxin challenge: Circulating and brain cytokines, plasma corticosterone and behavioral changes in mice. *Brain, Behavior, and Immunity*, 22, 573–589.
- Gibb, J., Hayley, S., Poulter, M. O., & Anisman, H. (2011). Effects of stressors and immune activating agents on peripheral and central cytokines in mouse strains that differ in stressor responsivity. *Brain, Behavior, and Immunity*, 25(3), 468–482.
- Grippe, A. J., Francis, J., Beltz, T. G., Felder, R. B., & Johnson, A. K. (2005). Neuroendocrine and cytokine profile of chronic mild stress-induced anhedonia. *Physiology & Behavior*, 84, 697–706.
- Huang, Q. J., Liu, H. M., Gan, L., Wang, X. N., Wang, J., & Liu, J. D. (2004). Aspirin alleviates behavioral depression induced by chronic stress in rats. *China Psychiatry*, 37(4), 236–240.
- [黄庆军, 刘惠敏, 甘露, 王晓娜, 王憬, 刘景东. (2004). 脂多糖与阿司匹林对应激所致大鼠行为性抑郁的对照研究. *中华精神科杂志*, 37(4), 236–240.]
- Johnson, J. D., O'Connor, K. A., Deak, T., Stark, M., Watkins, L. R., & Maier, S. F. (2002). Prior stressor exposure sensitizes LPS-induced cytokine production. *Brain, Behavior, and Immunity*, 16, 461–476.
- Johnson, J. D., O'Connor, K. A., Watkins, L. R., & Maier, S. F. (2004). The role of IL-1 β in stress-induced sensitization of proinflammatory cytokine and corticosterone responses. *Neuroscience*, 127, 569–577.
- Kirby, L. G., Chou-Green, J. M., Davis, K., & Lucki, I. (1997). The effects of different stressors on extracellular 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic acid. *Brain Research*, 760, 218–230.
- Kuang, X. Y., Lin, W. J., Wang, D. L., Qi, X. L., Pan, Y. Q., Sun, H., et al. (2011). The effect of cholecystokinin octapeptide on lipopolysaccharide-induced sickness behavior and peripheral cytokine secretion. *Acta Psychologica Sinica*, 43(3), 1–11.
- [邝雪莹, 林文娟, 王东林, 亓晓丽, 潘玉芹, 孙茜, 等. (2011). 胆囊收缩素对脂多糖诱发的病态行为及外周细胞因子的影响. *心理学报*, 43(3), 1–11.]
- Madrigal, J. L., Hurtado, O., Moro, M. A., Lizasoain, I., Lorenzo, P., Castrillo, A., et al. (2002). The increase in TNF- α levels is implicated in NF- κ B activation and inducible nitric oxide synthase expression in brain cortex after immobilization stress. *Neuropsychopharmacology*, 26, 155–163.
- Mathews, I. Z., Wilton, A., Styles, A., & McCormick, C. M. (2008). Increased depressive behaviour in females and heightened corticosterone release in males to swim stress after adolescent social stress in rats. *Behavioural Brain Research*, 190(1), 33–40.
- Minami, M., Kuraishi, Y., Yamaguchi, T., Nakai, S., Hirai, Y., & Satoh, M. (1991). Immobilization stress induces interleukin-1 β mRNA in the rat hypothalamus. *Neuroscience Letter*, 123(2), 254–256.
- Montkowski, A., Landgraf, R., Yassouridis, A., Holsboer, F., & Schöbitz, B. (1997). Central administration of IL-1 reduces anxiety and induces sickness behaviour in rats. *Pharmacological Biochemical Behavior*, 58, 329–336.
- O'Connor, K. A., Johnson, J. D., Hansen, M. K., Frank, J. L. W., Maksimova, E., Watkins, L. R., et al. (2003). Peripheral and central proinflammatory cytokine response to a severe acute stressor. *Brain Research*, 991, 123–132.
- Pan, Y. Q., Wang, D. L., & Lin, W. J. (2007). Animal research on immunity activation-induced depressive-like behavior: Doses and time effects. *Acta Psychologica Sinica*, 39, 1041–1047.
- [潘玉芹, 王东林, 林文娟. (2007). 脂多糖免疫激活导致抑郁性行为的动物研究: 剂量和时效效应. *心理学报*, 39, 1041–1047.]
- Qi, X. L., Lin, W. J., Li, J. F., Li, H. H., Wang, W. W., Wang, D. L., et al. (2008). Fluoxetine increases the activity of the ERK-CREB signal system and alleviates the depressive-like behavior in rats exposed to chronic forced swim stress. *Neurobiology of Disease*, 31(2), 278–285.
- Qi, X. L., Lin, W. J., Li, J. F., Pan, Y. Q., & Wang, W. W. (2006). The depressive-like behaviors are correlated with decreased phosphorylation of mitogen-activated protein kinases in rat brain following chronic forced swim stress. *Behavioral Brain Research*, 175, 233–240.
- Quan, N., He, L., Lai, W., Shen, T., & Herkenham, M. (2000). Induction of IkappaB α mRNA expression in the brain by glucocorticoids: A negative feedback mechanism for immune-to-brain signaling. *Neuroscience*, 20, 6473–6477.
- Simmons, D. A., & Broderick, P. A. (2005). Cytokines, stressors, and clinical depression: Augmented adaptation responses underlie depression pathogenesis. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 29, 793–807.
- Song, C., Hoebein, D. F., & Leonard, B. E. (2006). The comparison of changes in behavior, neurochemistry, endocrine, and immune functions after different routes, doses and durations of administrations of IL-1 β in rats. *Pharmacopsychiatry*, 39(3), 88–99.
- Walker, A. K., Nakamura, T., Byrne, R. J., Naicker, S., Tynan, R. J., Hunter, M., et al. (2009). Neonatal lipopolysaccharide and adult stress exposure predisposes rats to anxiety-like behaviour and blunted corticosterone responses: Implications for the double-hit hypothesis. *Psychoneuroendocrinology*, 34, 1515–1525.
- Wang, D. L., Lin, W. J., Pan, Y. Q., Kuang, X. Y., Qi, X. L., & Sun, H. (2011). Chronic blockade of glucocorticoid receptors by RU486 enhances lipopolysaccharide-induced depressive-like behaviour and cytokine production in rats. *Brain, Behavior, and Immunity*, 25, 706–714.
- Zheng, R. M., Zou, C. J., & Zhu, S. G. (2004). Central interleukin-1 β involved in modulation of motor behavior in novelty stress rats. *Journal of Peking University (Health Science)*, 36(3), 244–248.
- [郑瑞茂, 邹长江, 祝世功. (2004). 中枢 IL-1 β 参与新奇应激大鼠的运动行为调控. *北京大学学报(医学版)*, 36(3), 244–248.]

The Effect of Lipopolysaccharide on Depressive-like Behavior Induced by Forced Swim Stress

PAN Yu-Qin; LIN Wen-Juan; WANG Dong-Lin; SUN Han

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

Abstract

Stressful events engender multiple neurochemical and depressive-like behavior alteration as well as immune activation. Administration of lipopolysaccharide (LPS), which is known to activate immune functions and to induce the release of several cytokines both in the periphery and brain, also could engender depressive-like behavior alteration as same as stress. Many researchers paid attention to the effect of stress on immune activation. But few researches were related to the effect of activated-immune on the depressive-like behavior induced by stress. To further understand the role of immunity-activation induced cytokines in behavioral depression, the purpose of the present study was to investigate the effect of single administration of LPS prior to stress on depressive-like behavior induced by forced swim stress in rats. Forty-two rats were randomly divided into four groups: LS group (swim + LPS, n=12), LC group (LPS + control, n=10), AS group (saline +swim, n=10), AC group (saline + control, n=10). On the first experiment day, according to groups, rats were injected intraperitoneally with LPS 50ug/kg and saline respectively. After 2h, LS and AS group rats were conducted forced swim stress for 14 days. On the 2nd day, the 14th day, the 21st day and the 28th day, rats were tested with saccharin preference test, open field, elevated-plus maze. The results showed that saccharin preference percent, locomotion in open field, closed arms entries in elevated-plus maze in LS group were significant lower than that in AS group on the 2nd day. On the 14th day, LS and AS group rats had fewer saccharin preference percent and locomotion than AC group rats. On the 21st day, LS group rats had significant decrease compared with AC group in saccharin preference percent and locomotion behavior. These results demonstrate that a series of easily onset and longer duration of depressive-like behavior was observed in LS group rats. It suggested that LPS-induced pro-inflammation cytokines may have synergistic and additive effects on depressive-like behavior induced by stress, there may be a cross-sensitization between them to cause depression.

Key words lipopolysaccharide; forced swim stress; depressive-like behavior; saccharin preference test; open field; elevated-plus maze.