

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*

邝雪莹 林文娟 王东林 亓晓丽 潘玉芹 孙 菡 谢 希

(中国科学院心理健康重点实验室, 中国科学院心理研究所, 北京 100101)

摘 要 细胞因子在病态行为的产生中有重要的作用。八肽胆囊收缩素在前人研究中表明能够拮抗脂多糖在大鼠体内引起的细胞因子的分泌。实验目的: 利用八肽胆囊收缩素的抗炎作用研究细胞因子在病态行为中的作用。实验方法: 共分两个实验进行, 将大鼠分为控制组、免疫激活剂脂多糖组(200 $\mu\text{g/kg}$ 剂量, 腹腔注射)以及注射不同剂量的八肽胆囊收缩素的实验组(分别为 20 $\mu\text{g/kg}$ 、40 $\mu\text{g/kg}$ 、80 $\mu\text{g/kg}$ 和 120 $\mu\text{g/kg}$ 剂量), 各实验组在注射脂多糖前半小时注射相应剂量的八肽胆囊收缩素, 药物注射两小时后进行行为实验(糖水摄取量测验、旷场测验和高架十字迷宫测验), 然后对大鼠前炎性细胞因子包括白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)及抗炎性细胞因子白细胞介素-10(IL-10)的血清浓度进行分析。实验结果: 脂多糖诱发大鼠产生病态行为, 与控制组相比, 脂多糖组糖水摄取量降低, 旷场测验中活动性降低, 高架闭臂进入次数减少; 脂多糖诱导炎性细胞因子分泌增加, 与控制组相比, 脂多糖组前炎性细胞因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的分泌增加。在脂多糖注射前注射八肽胆囊收缩素能够抑制前炎性细胞因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的分泌, 但八肽胆囊收缩素未能改善免疫诱导的病态行为。结论: 本实验结果表明仅改变外周的细胞因子浓度并不能完全改变动物的病态行为, 病态行为的产生可能与脑区的细胞因子有更大的联系。

关键词 八肽胆囊收缩素; 脂多糖; 白细胞介素-1 β ; 白细胞介素-6; 白细胞介素-10; 肿瘤坏死因子- α ; 病态行为

分类号 B845

1 前言

机体的免疫、内分泌及神经系统中有大量的信号分子及调控物质, 这些物质对机体正常运作有重要作用。细胞因子是其中一种重要的免疫调控物质, 是一大类免疫蛋白的统称, 这些蛋白作为信号分子在免疫应答中进行调控。细胞因子包括白细胞介素(Interleukin)、肿瘤坏死因子(Tumor necrosis factor)、干扰素(Interferon)等等, 根据它们的功能不同可分为前炎性细胞因子(Proinflammatory cytokines)、抗炎性细胞因子(Anti-inflammatory cytokines)和造血细胞因子(Hematopoietic cytokines)等, 这些细胞因子在外周及脑区都有一定的分布(Kronfol &

Remick, 2000)。近年来, 许多研究发现前炎性细胞因子特别是白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素-6 (Interleukin-6, IL-6)以及肿瘤坏死因子(Tumor necrosis factor- α , TNF- α)等细胞因子对机体行为有重要影响, 这些由单核细胞或巨噬细胞在机体免疫反应中分泌释放的信号分子不仅调控机体的免疫反应, 还可能对机体其它行为(如情绪、认知)产生影响。如接受细胞因子干扰素- α (interferon- α , IFN- α)注射的被试在反应时任务上表现较差(Smith, Tyrrell, Coyle, & Higgins, 1988)。又如接受脂多糖免疫应激的被试的外周细胞因子水平上升与被试的焦虑、抑郁情绪出现及记忆成绩降低有正性相关(Reichenberg et al., 2001)。另外, 有研究表明

收稿日期: 2010-06-30

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

通讯作者: 林文娟, E-mail: linwj@psych.ac.cn

抑郁患者的信号分子或调控物质的外周血样浓度有异于健康人,如抑郁患者的血液中有较高水平的 IL-6 (Yoshimura et al., 2009; Brietzke et al., 2009) 和 TNF- α (Yoshimura et al., 2009)。有研究者认为 IL-6 与 IL-10 之间的比值可能与抑郁行为有一定联系,如 Dhabhar 等人(2009)发现抑郁症病人的外周血中 IL-6/IL-10 的比值与健康组相比较高(Dhabhar et al., 2009)。这些研究在一定程度上说明,外周细胞因子水平变化与个体的情绪及认知等行为改变有一定相关性。

随着细胞因子与病态行为的研究深入,研究者认为由免疫系统激活产生的细胞因子在外周(炎症发生的躯体部位或体液)产生后,通过传入神经传导神经信号或细胞因子随体液而进入脑区,引起病态行为的出现(Dantzer, 2004, 2009; Miller, Maletic, & Raison, 2009)。该病态行为具有许多与抑郁症相似的特征,包括心境、植物神经功能和认知的改变(Dantzer, 2004)。在此理论基础上,如果要改善动物的病态或抑郁行为,可以先从抑制细胞因子的分泌出发。抑制细胞因子分泌可以通过细胞因子拮抗剂或其它药物来实现。在过往的动物病态行为研究中,研究者一直以来比较关注各种细胞因子相应的拮抗剂在动物病态行为的作用及其在减轻病态行为方面的效果,而抗炎药物在动物病态行为中的作用的研究相对较少。抗炎性药物对细胞因子的拮抗作用在抗抑郁方面的效用还有待进一步的研究。

胆囊收缩素(Cholecystokinin, CCK),是一类长短不同的分子的总称,各种形式的 CCK 是经过含 115 个氨基酸残基的 CCK 原加工剪切形成的多肽,其中以羟基端酰胺化的 CCK-8 和 CCK-33 为主要形式。CCK 广泛存在于胃肠道和中枢神经系统(Larsson & Rehfeld, 1979),具有多种生理学功能,促进胆囊收缩,调节胰酶的分泌和胰腺的生长、胃肠蠕动,以及抑制胃酸分泌,并参与饱腹信号的传导。同时,胆囊收缩素也是中枢和肠道神经系统的一种递质,并且是脑中含量最丰富的一种神经肽,参与调节多种中枢神经系统的功能,如调节摄食、胰岛素分泌等等(杜静,张连峰,秦川,2007)。除了以上所述的生理功能,近年来,有报道指出,八肽胆囊收缩素(Cholecystokinin-8, CCK-8)在抗炎方面还有调节细胞因子分泌的作用,研究者发现八肽胆囊收缩素能够抑制内毒素休克中大鼠血清、心脏、肺及脾脏中炎症细胞因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的分泌(Ling et al., 2001; Meng, Ling, Zhang, Zhao, &

Zhang, 2002); 八肽胆囊收缩素还能抑制脂多糖在血清中诱导的 NO 产生 (Meng, Ling, Zhang, & Zhang, 2002)。这些研究说明八肽胆囊收缩素具有一定的抗炎性,对脂多糖诱导的细胞因子分泌有一定的抑制作用。

脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)是革兰氏阴性细菌外膜的主要组成部分,在机体注射后能引起免疫反应,诱导多种炎症细胞因子(如 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α)的分泌。根据潘玉芹等人(2007)的工作,200 $\mu\text{g/kg}$ 剂量的脂多糖有效引起大鼠的病态行为的出现以及血清细胞因子分泌的增加(潘玉芹,王东林,林文娟,2007),本研究在此工作基础上建立免疫激活诱导的病态行为模型。根据 Ling 等(2001)的研究工作,40 $\mu\text{g/kg}$ 剂量的八肽胆囊收缩素能有效地抑制脂多糖诱导的细胞因子的分泌,故本研究共设置两组实验,实验 1 中考察 40 $\mu\text{g/kg}$ 八肽胆囊收缩素对脂多糖诱发的病态行为及外周细胞因子分泌的影响,实验 2 中进一步考察不同剂量的八肽胆囊收缩素对脂多糖诱发的病态行为及外周细胞因子分泌的影响。本研究试图通过八肽胆囊收缩素的抗炎作用,了解抗炎药物对动物病态行为的影响;另一方面,根据以往的研究,相关的细胞因子分泌增加与病态行为出现有密切的相关性,本研究设想若在实验中利用八肽胆囊收缩素降低了动物体内的外周细胞因子的浓度,动物的病态行为则可能因此而减轻或消失。

2 实验材料与方法

2.1 实验动物

实验选用 SPF 级健康的雄性 Sprague-Dawley (SD)大鼠(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 $\times$ 22.5 cm $\times$ 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 $\pm$ 0.5 $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 40~70%,光/暗周期为 12 h/12 h (其中光照时间为 07:00~19:00)。实验前给予大鼠适应期,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 实验试剂

脂多糖(lipopolysaccharide, LPS, *Escherichia coli* serotype 055:B5, 来自 Sigma 公司),于注射前溶于无菌生理盐水中,配制浓度为 200 $\mu\text{g/ml}$ 注射液。硫酸化八肽胆囊收缩素(sulfated cholecystokinin

-8, CCK-8s, CAS Number: 25126-32-3, 来自 Sigma 公司), 于注射前溶于无菌生理盐水中, 分别配制成浓度为 20 $\mu\text{g/ml}$ 、40 $\mu\text{g/ml}$ 、80 $\mu\text{g/ml}$ 、120 $\mu\text{g/ml}$ 注射液。生理盐水(来自山东华鲁制药有限公司), 常温保存。糖精钠(来自天津北方食品有限公司), 在糖水摄取量测验前配制成 0.5%糖精水溶液。

2.3 实验程序

实验包括两个部分。实验 1 中动物共为 46 只, 动物按随机原则分为四组, 分别是 1) 控制组(10 只), 该组动物进行生理盐水注射; 2) LPS 组(12 只), 该组动物接受 200 $\mu\text{g/kg}$ 剂量的脂多糖注射; 3) CCK-40+LPS 组(12 只), 该组动物在进行脂多糖注射前半小时注射八肽胆囊收缩素(40 $\mu\text{g/kg}$), 然后再注射脂多糖(200 $\mu\text{g/kg}$); 4) CCK-40 组(12 只), 该组动物进行八肽胆囊收缩素注射(40 $\mu\text{g/kg}$)。正式实验开始时动物平均体重为 $287 \pm 21 \text{ g}$ 。

实验 2 中动物共为 48 只, 动物按随机原则分为六组: 1) 控制组(8 只), 注射生理盐水; 2) LPS 组(8 只), 注射脂多糖(200 $\mu\text{g/kg}$); 3) CCK-20+LPS 组(8 只), 注射八肽胆囊收缩素(20 $\mu\text{g/kg}$), 半小时后注射脂多糖(200 $\mu\text{g/kg}$); 4) CCK-40+LPS 组(8 只), 注射八肽胆囊收缩素(40 $\mu\text{g/kg}$), 半小时后注射脂多糖(200 $\mu\text{g/kg}$); 5) CCK-80+LPS 组(8 只), 注射八肽胆囊收缩素(80 $\mu\text{g/kg}$), 半小时后注射脂多糖(200 $\mu\text{g/kg}$); 6) CCK-120+LPS 组(8 只), 注射八肽胆囊收缩素(120 $\mu\text{g/kg}$), 半小时后注射脂多糖(200 $\mu\text{g/kg}$)。正式实验开始时动物平均体重为 $259 \pm 18 \text{ g}$ 。

生理盐水、脂多糖、八肽胆囊收缩素药物注射均以腹腔内注射(i.p.)方式进行。

2.4 行为测验

实验 1 与实验 2 在行为测验上操作一致。

糖水摄取量测验: 实验前一天对大鼠进行 24 小时饮水剥夺, 在测试当天进行 1 小时的糖水摄取量测验, 测试期间让大鼠接触两个饮水瓶: 一个装饮用水, 一个装 0.5%糖精水。测试前后瓶重之差为测试期间大鼠对饮用水和糖精水的摄取量。测试结束后, 停止饮水剥夺, 给大鼠恢复自由饮水。前测在注射药物前一天进行, 后测在动物注射药物后 2 小时进行。

旷场测验: 将大鼠放入旷场(open-field)实验箱(直径为 1.8 m, 高为 50 cm 的圆形铁皮桶, 桶壁及桶底涂以黑漆), 大鼠在旷场内自发活动的运动轨迹由摄像与电脑视频图象分析系统跟踪并记录, 每只大鼠每次测试 5 分钟。观察指标主要是水平活动,

以测试期间大鼠在旷场中的水平活动距离(cm)为计算指标。前测在注射药物前一天进行, 后测在动物注射药物后 3 小时、糖水消耗量测验结束后进行。

高架十字迷宫测验: 将大鼠放置在方形状中央区, 面对同一个开臂, 大鼠在十字迷宫上的自发活动由 MED-PC 跟踪系统自动记录, 每只大鼠测试 5 分钟。记录的行为指标包括: 闭臂进入次数和闭臂停留时间。每次测试后用 30% 的乙醇溶液清洁臂体。前测在注射药物前一天进行, 后测在动物注射药物后约 3 小时、每只动物旷场测验结束后进行。

2.5 细胞因子测定

因 LPS 引起的细胞因子的变化和 CCK-8 抗炎性反应的高峰均在 2 到 6 小时(Ling et al., 2001), 故在所有行为实验结束后立即将大鼠斩首取血(动物注射药物后 6 小时内), 采集血液约 10 ml 注入离心管中。将标本离心(于 4°C, 3000 rpm 条件下离心约 15 分钟)。取经离心后的标本的上层血清于试剂管, 储存于 -80°C 冰箱待测。使用 ELISA 试剂盒测定血清中前炎性细胞因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和抗炎性细胞因子 IL-10 水平。ELISA 试剂盒由北京莱博特利生物医学科技有限公司提供, 并由该公司负责细胞因子血清浓度的测定。

2.6 统计方法

数据以“均值 $\pm$ 标准误”表达, 各组数据根据平均数与标准差去除两端极值后再进行数据分析。行为实验结果和细胞因子数据均用 ANOVA 分析, 各组之间的差异以 Scheffe 检验进行事后检验, 取概率值 $p < 0.05$ 为具有统计学显著意义。

3 实验结果

3.1 外周注射 40 $\mu\text{g/kg}$ 剂量的八肽胆囊收缩素降低外周细胞因子浓度但未能缓解 LPS 诱发的病态行为

3.1.1 各组动物在行为实验的前测中表现无显著差异 在实验 1 行为实验前测中, 糖水摄取量测验、旷场测验和高架十字迷宫测验结果经 ANOVA 分析, 各组动物均值差异均不显著。

3.1.2 八肽胆囊收缩素的外周注射未能缓解脂多糖诱发的病态行为 糖水摄取量测验结果见图 1a。糖水摄取量测定结果经 ANOVA 分析, 各组差异显著, $F(3,27) = 35.76$, $p < 0.001$ 。经 Scheffe 检验, 与控制组相比, LPS 组和 CCK-40+LPS 组的糖水摄取量显著减少($p < 0.001$); CCK-40 组与控制组并无显

著差异。与 LPS 组相比, CCK-40+LPS 组的糖水摄取量均值显著减少($p < 0.05$)。饮水和糖水总摄取量测定结果经 ANOVA 分析, 各组差异显著, $F(3, 29) = 80.77, p < 0.001$ 。经 Scheffe 检验, 与控制组相比, LPS 组和 CCK-40+LPS 组的摄取量均值显著减少($p < 0.001$), CCK-40 组的摄取量均值显著减少 ($p < 0.05$)。与 LPS 组相比, CCK-40+LPS 组的摄取量均值

差异不显著。CCK-40 组与 CCK-40+LPS 组相比, 饮水和糖水总摄取量显著增加($p < 0.001$) (图 1b)。实验结果显示, 脂多糖引起大鼠对饮水及糖水的摄取减少, 八肽胆囊收缩素的单独作用对动物在糖水的摄取上影响不大, 在饮水和糖水的总摄取上则有所降低, 而在脂多糖注射前对大鼠注射八肽胆囊收缩素并不能拮抗脂多糖对饮水摄取的影响。

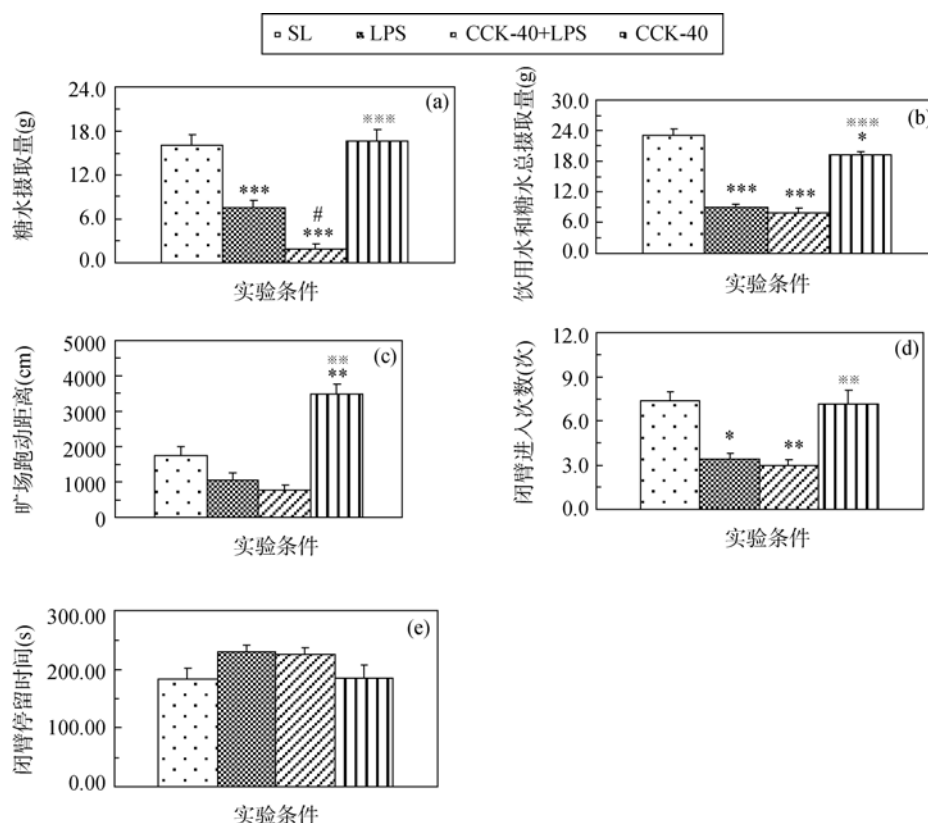


图 1 八肽胆囊收缩素对脂多糖诱发的病态行为的作用。(a)各组大鼠之间糖水摄入量的比较; (b)各组大鼠之间饮水和糖水摄入总量的比较; (c)各组大鼠之间旷场跑动距离的比较; (d)各组大鼠之间高架十字迷宫中闭臂进入次数的比较; (e)各组大鼠之间高架十字迷宫中的闭臂停留时间的比较。与控制组比较, *表示 $p < 0.05$, **表示 $p < 0.01$, ***表示 $p < 0.001$; 与 LPS 组比较, #表示 $p < 0.05$, ##表示 $p < 0.01$, ###表示 $p < 0.001$; 与 CCK-40+LPS 组比较, ※表示 $p < 0.05$, ※※表示 $p < 0.01$, ※※※表示 $p < 0.001$ 。T 表示该组数据平均值的标准误。

旷场行为测验结果见图 1c。结果经 ANOVA 分析, 跑动距离各组差异显著, $F(3, 31) = 29.41, p < 0.001$ 。经 Scheffe 检验, 与控制组相比, CCK-40 组的跑动距离显著升高($p < 0.001$), LPS 组、CCK-40 + LPS 组的均值降低, 但差异未达到显著水平。实验结果显示, 脂多糖降低大鼠在旷场中的活动性; 在八肽胆囊收缩素的单独作用下, 大鼠的跑动距离与控制组相比有所提高, 而在脂多糖注射前对大鼠注射八肽胆囊收缩素并不能拮抗脂多糖降低大鼠活动性的作用。

高架十字迷宫测验结果见图 1d 和图 1e。结果

经 ANOVA 分析, 闭臂进入次数各组差异显著, $F(3, 31) = 11.05, p < 0.001$ 。经 Scheffe 检验, 与控制组相比, LPS 组、CCK-40+LPS 组的闭臂进入次数显著降低($p < 0.01$), CCK-40 组与控制组并无差异。闭臂停留时间各组差异不显著。实验结果显示, 脂多糖诱发大鼠在高架十字迷宫测验中的焦虑表现, 八肽胆囊收缩素的单独作用并不引起大鼠的焦虑行为, 而在脂多糖注射前对大鼠注射八肽胆囊收缩素并不能缓解脂多糖诱发的焦虑。

由以上对各行为实验结果的 ANOVA 分析可得, 脂多糖诱发了大鼠病态行为的出现, 八肽胆囊收缩

素的单独作用并未对动物行为产生影响,而在脂多糖注射前注射八肽胆囊收缩素并不能缓解脂多糖诱发的病态行为。

3.1.3 八肽胆囊收缩素的外周注射抑制脂多糖诱发的细胞因子分泌 IL-1 β 测定结果见图 2a。实验结果经 ANOVA 分析,各组差异显著, $F(3,26) = 19.39$, $p < 0.001$ 。经 Scheffe 检验,与控制组相比,

LPS 组显著增加($p < 0.001$), CCK-40+LPS 组和 CCK-40 组与控制组差异不显著。与 LPS 组相比, CCK-40+LPS 组显著降低($p < 0.01$)。实验结果显示,脂多糖引起外周 IL-1 β 的分泌增加,八肽胆囊收缩素的单独作用对外周 IL-1 β 的分泌并无明显影响,而在脂多糖注射前对大鼠注射八肽胆囊收缩素能抑制脂多糖引起的 IL-1 β 分泌。

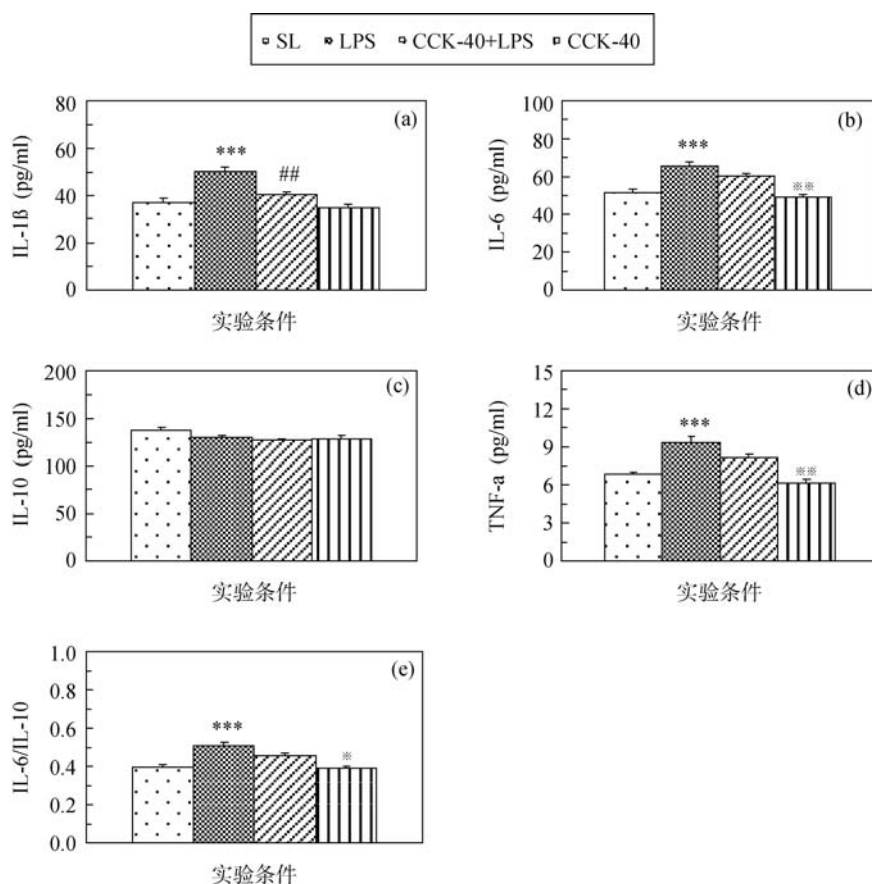


图2 八肽胆囊收缩素降低脂多糖诱导的炎症细胞因子的血清浓度。(a)不同处理对各组大鼠 IL-1 β 分泌的影响;(b)不同处理对各组大鼠 IL-6 分泌的影响;(c)不同处理对各组大鼠 IL-10 分泌的影响;(d)不同处理对各组大鼠 TNF- α 分泌的影响;(e)不同处理对各组大鼠 IL-6 与 IL-10 的比值(IL-6/IL-10)的影响。与控制组比较,*表示 $p < 0.05$,**表示 $p < 0.01$,***表示 $p < 0.001$;与 LPS 组比较,#表示 $p < 0.05$,##表示 $p < 0.01$,###表示 $p < 0.001$;与 CCK-40+LPS 组比较,※表示 $p < 0.05$,※※表示 $p < 0.01$,※※※表示 $p < 0.001$ 。T表示该组数据平均值的标准误。

IL-6 测定结果见图 2b。实验结果经 ANOVA 分析,各组差异显著, $F(3,27) = 16.01$, $p < 0.001$ 。经 Scheffe 检验,与控制组相比, LPS 组 IL-6 分泌显著增加($p < 0.001$), CCK-40+LPS 组和 CCK-40 组与控制组差异不显著。与 LPS 组相比, CCK-40+LPS 组虽有降低,但差异未达到显著水平。实验结果显示,脂多糖引起外周 IL-6 的分泌增加,八肽胆囊收缩素的单独作用对外周 IL-6 的分泌并无明显影响,而在脂多糖注射前对大鼠注射八肽胆囊收缩素能抑制

脂多糖引起的 IL-6 分泌。

TNF- α 测定结果见图 2d。实验结果经 ANOVA 分析,各组差异显著, $F(3,28) = 19.85$, $p < 0.001$ 。经 Scheffe 检验,与控制组相比, LPS 组 TNF- α 分泌显著增加($p < 0.001$), CCK-40+LPS 组和 CCK-40 组与控制组差异不显著。与 LPS 组相比, CCK-40+LPS 组虽有所降低,但未达到显著水平。实验结果显示,脂多糖引起外周 TNF- α 的分泌增加,八肽胆囊收缩素的单独作用对外周 TNF- α 的分泌并无明显影响,

而在脂多糖注射前对大鼠注射八肽胆囊收缩素能抑制脂多糖引起的 TNF- α 分泌。

IL-10 测定结果见图 2c。实验结果经 ANOVA 分析, 各组差异不显著: $F(3,24) = 2.06, p > 0.05$ 。实验结果显示, 脂多糖和八肽胆囊收缩素的单独作用对大鼠的外周 IL-10 的分泌并无明显作用, 在脂多糖注射前注射八肽胆囊收缩素对大鼠的外周 IL-10 的分泌也无明显作用。

IL-6 与 IL-10 的比值(IL-6/IL-10)结果见图 2e。实验结果经 ANOVA 分析, 各组差异显著, $F(3,27) = 11.75, p < 0.001$ 。经 Scheffe 检验, 与控制组相比, LPS 组 IL-6/IL-10 显著升高($p < 0.001$), CCK-40+LPS 组和 CCK-40 组与控制组差异不显著。与 LPS 组相比, CCK-40+LPS 组虽有所降低, 但未达到显著水平。实验结果显示, 脂多糖引起外周 IL-6/IL-10 上升, 八肽胆囊收缩素的单独作用对 IL-6/IL-10 并无明显影响, 而在脂多糖注射前对大鼠注射八肽胆囊收缩素能降低 IL-6/IL-10 比值。

由以上对各细胞因子血清浓度测定结果的 ANOVA 分析可得, 脂多糖引起大鼠外周血中的细胞因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 浓度的增加, 无论是在脂多糖注射前注射八肽胆囊收缩素, 或者是单独注射八肽胆囊收缩素, 都起到抑制机体产生细胞因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的作用, 但八肽胆囊收缩素在 40 $\mu\text{g/kg}$ 剂量上对脂多糖引起的 IL-6 和 TNF- α 分泌的抑制作用与脂多糖单独作用相比在统计上还未达到显著水平。脂多糖和八肽胆囊收缩素对 IL-10 的分泌影响不明显。

3.2 不同剂量的八肽胆囊收缩素对 LPS 诱发的病态行为和细胞因子的影响

3.2.1 行为实验前测中各组动物表现无明显差异 在实验 2 行为实验前测中, 糖水摄取量测验、旷场测验和高架十字迷宫测验结果经 ANOVA 分析, 各组动物均值差异均不显著。

3.2.2 不同剂量的八肽胆囊收缩素未能改善 LPS 诱发的病态行为 糖水摄取量测验结果见图 3a。糖水摄取量测定结果经 ANOVA 分析, 各组差异显著, $F(5,32) = 7.58, p < 0.001$ 。经 Scheffe 检验, 与控制组相比, LPS 组、CCK-20+LPS 组、CCK-40+LPS 组糖水摄取量显著减少($p < 0.01$), CCK-120+LPS 糖水摄取量更显著减少($p < 0.001$), CCK-80+LPS 组虽有所减少, 但未达到显著水平; 与 LPS 组相比, CCK-20+LPS 组、CCK-40+LPS 组、CCK-80+LPS

组和 CCK-120+LPS 组差异均未达到显著水平。饮水和糖水总摄取量测定结果(图 3b) 经 ANOVA 分析, 各组差异显著, $F(5,32) = 16.70, p < 0.001$ 。经 Scheffe 检验, 与控制组相比, LPS 组、CCK-20+LPS 组、CCK-40+LPS 组、CCK-120+LPS 组和 CCK-80+LPS 组的总摄取量显著减少($p < 0.01$); 与 LPS 组相比, CCK-20+LPS 组、CCK-40+LPS 组、CCK-80+LPS 组和 CCK-120+LPS 组差异均未达到显著水平。实验结果显示, 脂多糖降低了大鼠对糖水及饮水的摄取量, 在脂多糖注射前注射八肽胆囊收缩素并不能缓解脂多糖引起的水摄取量降低, 随着八肽胆囊收缩素的剂量增加, 动物由于脂多糖引起的水摄取量降低的表现并无改善。

旷场行为测验结果见图 3c。经 ANOVA 分析, 跑动距离各组差异显著, $F(5,30) = 9.92, p < 0.001$ 。经 Scheffe 检验, 与控制组相比, LPS 组、CCK-20+LPS 组和 CCK-80+LPS 组跑动距离减少($p < 0.05$), CCK-40+LPS 组和 CCK-120+LPS 组显著减少($p < 0.001$); 与 LPS 组相比, CCK-20+LPS 组、CCK-40+LPS 组、CCK-80+LPS 组和 CCK-120+LPS 组均值差异均未达到显著水平。实验结果显示, 脂多糖降低了大鼠在旷场测验中的活动性, 在脂多糖注射前注射八肽胆囊收缩素并不能缓解脂多糖的作用, 随着八肽胆囊收缩素的剂量增加, 动物由于脂多糖引起的低活动性并无改善。

高架十字迷宫测验结果见图 3d 和图 3e。经 ANOVA 分析, 闭臂进入次数各组差异显著, $F(5,33) = 14.98, p < 0.001$ 。经 Scheffe 检验, 与控制组相比, LPS 组、CCK-20+LPS 组、CCK-40+LPS 组、CCK-80+LPS 组和 CCK-120+LPS 组的闭臂进入次数显著减少($p < 0.001$); 与 LPS 组相比, CCK-20+LPS 组、CCK-40+LPS 组、CCK-80+LPS 组和 CCK-120+LPS 组差异均未达到显著水平。闭臂停留时间各组差异显著, $F(5,32) = 7.24, p < 0.001$ 。与控制组相比, LPS 组、CCK-40+LPS 组和 CCK-120+LPS 组增加($p < 0.05$), CCK-20+LPS 组和 CCK-80+LPS 组差异不显著; 与 LPS 组相比, CCK-20+LPS 组、CCK-40+LPS 组、CCK-80+LPS 组和 CCK-120+LPS 组均值差异均未达到显著水平。实验结果显示, 脂多糖引起大鼠在高架十字迷宫测验中的焦虑表现, 在脂多糖注射前注射八肽胆囊收缩素并未明显改善脂多糖引起的焦虑, 随着八肽胆囊收缩素的剂量增加, 动物由于脂多糖引起的焦虑并无明显改善。

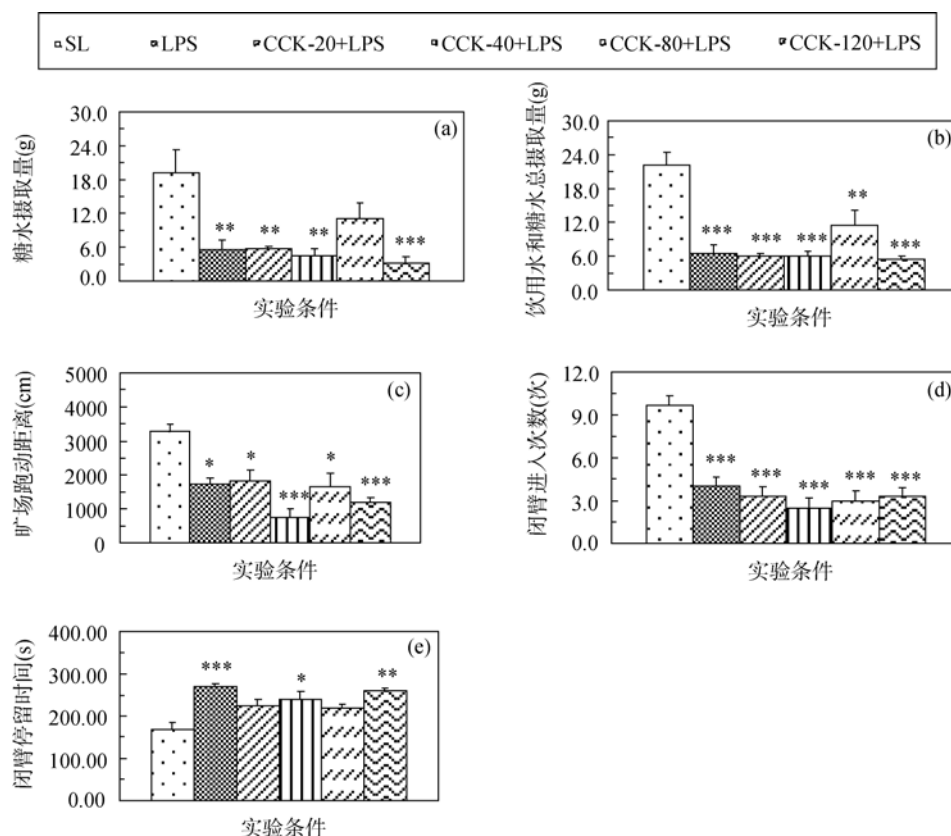


图3 不同剂量的八肽胆囊收缩素未能改善脂多糖诱发的病态行为。(a)各组大鼠之间糖水摄取量的比较;(b)各组大鼠之间饮水和糖水摄取量的比较;(c)各组大鼠之间旷场中跑动距离的比较;(d)各组大鼠之间高架十字迷宫中闭臂进入次数的比较;(e)各组大鼠之间高架十字迷宫中闭臂停留时间的比较。与控制组比较,*表示 $p < 0.05$,**表示 $p < 0.01$,***表示 $p < 0.001$ 。T表示该组数据平均值的标准误。

由以上对各行为实验结果的ANOVA分析可得,脂多糖诱发了大鼠病态行为的出现,而在脂多糖注射前注射不同剂量(20 $\mu\text{g/kg}$ 至 120 $\mu\text{g/kg}$)的八肽胆囊收缩素并未缓解脂多糖引起的病态行为,八肽胆囊收缩素对脂多糖引起的病态行为的影响并无明显的剂量效应。

3.2.3 不同剂量的八肽胆囊收缩素抑制 LPS 诱导的 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的产生 IL-1 β 测定结果见图 4a。实验结果经 ANOVA 分析,各组差异显著, $F(5,30) = 6.89, p < 0.001$ 。经 Scheffe 检验,与控制组相比,LPS 组 IL-1 β 分泌显著增加($p < 0.01$),CCK-20+LPS 组、CCK-40+LPS 组、CCK-80+LPS 组和 CCK-120+LPS 组差异不显著;与 LPS 组相比,CCK-20+LPS 组和 CCK-80+LPS 组的 IL-1 β 分泌减少($p < 0.05$),而 CCK-40+LPS 组和 CCK-120+LPS 组的 IL-1 β 的差异未达到显著水平。实验结果显示,八肽胆囊收缩素能有效抑制脂多糖引起的 IL-1 β 分泌但无明显的剂量效应。

IL-6 测定结果见图 4b。实验结果经 ANOVA 分

析,各组差异显著: $F(5,31) = 6.96, p < 0.001$ 。经 Scheffe 检验,与控制组相比,LPS 组和 CCK-20+LPS 组 IL-6 分泌显著增加($p < 0.01$ 和 $p < 0.05$),CCK-40+LPS 组、CCK-80+LPS 组和 CCK-120+LPS 组的均值差异不显著;与 LPS 组相比,CCK-120+LPS 组 IL-6 分泌显著降低($p < 0.01$),CCK-20+LPS 组、CCK-40+LPS 组和 CCK-80+LPS 组均值降低,但未达到显著水平。实验结果显示,八肽胆囊收缩素能有效抑制脂多糖引起的 IL-6 分泌,且随着剂量增加,抑制作用增强。

TNF- α 测定结果见图 4d。实验结果经 ANOVA 分析,各组差异显著, $F(5,30) = 9.13, p < 0.001$ 。经 Scheffe 检验,与控制组相比,LPS 组 TNF- α 分泌显著增加($p < 0.001$),CCK-20+LPS 组、CCK-40+LPS 组、CCK-80+LPS 组和 CCK-120+LPS 组的均值差异不显著;与 LPS 组相比,CCK-20+LPS 组、CCK-40+LPS 组、CCK-80+LPS 组和 CCK-120+LPS 组 TNF- α 分泌显著降低($p < 0.01$)。实验结果显示,八肽胆囊收缩素能有效抑制内毒素引起的 TNF- α 分泌,但无明显的剂量效应。

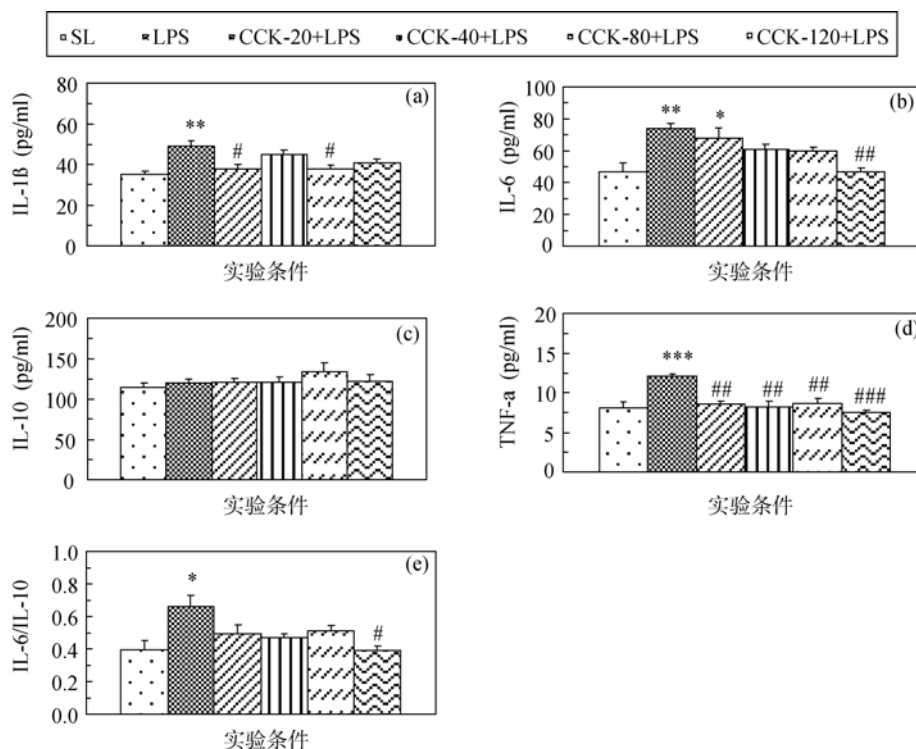


图 4 不同剂量的八肽胆囊收缩素抑制脂多糖引起的炎症细胞因子分泌但无明显的剂量效应。(a)不同处理对各组大鼠 IL-1 β 分泌的影响; (b)不同处理对各组大鼠 IL-6 分泌的影响; (c)不同处理对各组大鼠 IL-10 分泌的影响; (d)不同处理对各组大鼠 TNF- α 分泌的影响; (e)不同处理对各组大鼠 IL-6/IL-10 的影响。与控制组比较, *表示 $p < 0.05$, **表示 $p < 0.01$, ***表示 $p < 0.001$; 与 LPS 组比较, #表示 $p < 0.05$, ##表示 $p < 0.01$, ###表示 $p < 0.001$ 。T 表示该组数据平均值的标准误。

IL-10 测定结果见图 4c。实验结果经 ANOVA 分析, 各组差异不显著: $F(5,30) = 0.87, p > 0.05$ 。八肽胆囊收缩素对 IL-10 分泌无显著影响。

IL-6 与 IL-10 的比值(IL-6/IL-10)结果见图 4e。各组 IL-6/IL-10 的均值经 ANOVA 分析, 各组差异显著, $F(5,30) = 4.22, p < 0.01$ 。经 Scheffe 检验, 与控制组相比, LPS 组 IL-6/IL-10 显著升高($p < 0.05$), CCK-20+LPS 组、CCK-40+LPS 组、CCK-80+LPS 组和 CCK-120+LPS 组差异不显著。与 LPS 组相比, CCK-20+LPS 组、CCK-40+LPS 组和 CCK-80+LPS 组差异都未达到显著水平, 而 CCK-120+LPS 组显著降低($p < 0.05$)。实验结果显示, 八肽胆囊收缩素能降低外周血中 IL-6/IL-10。

由以上对各细胞因子血清浓度测定结果的 ANOVA 分析可得, 脂多糖引起大鼠外周血中的细胞因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 浓度的增加, 在脂多糖注射前注射八肽胆囊收缩素, 能有效抑制机体产生细胞因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α , 但并无明显剂量效应。脂多糖和八肽胆囊收缩素对 IL-10 的分泌影响不明显。

4 讨论

4.1 外周细胞因子水平的降低与病态行为的缓解无明显的关联

实验 1 与 2 的结果中 LPS 的外周注射能够引起大鼠出现病态行为, 表现为糖水摄取量减少, 在旷场测验中活动量降低, 在高架十字迷宫中活动性降低, 表现为进入闭臂次数减少而在闭臂停留时间增加。在 LPS 注射前注射 CCK-8 能够有效降低 LPS 在生物体内引起的细胞因子(IL-1 β 、IL-6 与 TNF- α)的产生, 但并未减轻动物的病态表现。如在大鼠腹腔以 120 μ g/kg 的剂量注射 CCK-8 的实验组中, IL-6 和 TNF- α 的血清浓度已经降至低于控制组, IL-1 β 的血清浓度则与控制组相比无显著差异, 但与控制组相比, CCK-120+LPS 组的大鼠的病态行为表现依然显著。这一实验结果与本实验的最初假设并不一致。在动物行为研究与抑郁病人研究中, 机体外周血的细胞因子(IL-1 β 、IL-6 与 TNF- α)浓度是与病态行为相关, 如抑郁患者的 IL-6 与 TNF- α 的血清浓度较健康被试高(Yoshimura et al., 2009; Brietzke et al.,

2009)。而在本实验中, 虽然 LPS 组的动物的炎性细胞因子的血清浓度较高, 病态表现也较控制组明显, 但反之并不亦然, 注射八肽胆囊收缩素的各实验组大鼠, 炎性细胞因子的外周血清浓度降低了, 但其病态表现并未得到减轻。这实验结果提示了, 虽然生物体内的炎性细胞因子浓度上升与病态行为的出现有紧密联系, 但改变外周炎性细胞因子浓度并未能影响病态行为的发生, 可能病态行为与脑区的细胞因子浓度有更紧密的联系, 这一点能从 Teeling 等研究者(2007)的报道得到一定支持, 他们发现, 在小鼠上腹腔注射 IL-1 β 、IL-6 与 TNF- α 的抗体后再注射内毒素, 这些小鼠在挖掘行为(Burrowing behaviours)上与注射生理盐水的控制组相比表现出低活动性, 与内毒素单独作用的小鼠的表现则无显著差异(Teeling et al., 2007)。

实验中另一个发现是, 八肽胆囊收缩素对生物体内的抗炎性细胞因子 IL-10 分泌未有影响, 在两组实验中, 各实验组的 IL-10 血清浓度均数差异并未达到显著, 而 LPS 组的 IL-6/IL-10 值较控制组高, 注射八肽胆囊收缩素的实验组的 IL-6/IL-10 值较 LPS 组低(如 CCK-120+LPS 组与 LPS 组的 IL-6/IL-10 值的差异达到 $p < 0.05$ 显著水平)。Dhabhar 等研究者(2009)的研究提示较高的 IL-6 与 IL-10 的比值可能与抑郁行为有关, 本研究中也发现脂多糖能诱发炎性细胞因子的分泌, 提高 IL-6/IL-10 值, 与病态行为的出现有关, 但八肽胆囊收缩素抑制脂多糖诱导的炎性细胞因子分泌, 降低 IL-6/IL-10 值, 但免疫激活诱导的病态行为并无明显改善。这一实验结果说明仅降低 IL-6 的血清浓度, 从而降低 IL-6/IL-10 值, 并不足以改善由于免疫激活诱导的病态行为, 可能还需要提高抗炎性细胞因子 IL-10 的外周浓度以进一步改善免疫激活诱导的病态行为。如 Mesquita 等研究者(2008)研究指出, IL-10 的变化与动物的病态行为改善有关, IL-10 在体内浓度的上升可改善病态行为的表现(Mesquita et al., 2008)。

综上所述, 炎性细胞因子的分泌增多与病态行为的出现有相关性, 但药物干预减少炎性细胞因子的产生后是否能改善病态行为还有待更进一步的探究。

4.2 八肽胆囊收缩素对病态行为的影响

实验 1 中八肽胆囊收缩素的单独注射并未诱发大鼠的病态行为出现, 而接受八肽胆囊收缩素与脂多糖共同作用的大鼠则出现了病态行为, 这在一定

程度说明八肽胆囊收缩素与脂多糖注射到大鼠体内所引起的病态行为主要是由脂多糖引起的。根据本研究的假设, 八肽胆囊收缩素降低外周细胞因子水平可能缓解动物的病态行为, 而实验 1 与实验 2 的结果表明, 八肽胆囊收缩素拮抗细胞因子的分泌但未能改善动物的病态行为。在前述已讨论了细胞因子在动物行为中的作用, 在这里还需补充阐述胆囊收缩素在生物体的生理功能对动物行为的影响。

胆囊收缩素除了具有调节生物的摄食的这个主要功能外, 近年来有研究发现胆囊收缩素对动物其它行为的影响, 特别是胆囊收缩素及其结构类似物在脑区的作用, 如自主活动(Zetler, 1982), 记忆(Schneider, Osterburg, & Buchner, 2009), 焦虑(Köks et al., 2000), 惊恐(Bradwejn, 1993)。但 CCK 对动物这些行为的影响与其不同的存在形式有关。不同形式的 CCK 对动物行为甚至会出现截然相反的作用(Rex et al., 1994), 如在伏隔核(nucleus accumbens)注射 CCK-4 与 CCK-8, 前者增加了动物在旷场测验中的自主活动量而后者却显现降低的作用(Katsuura et al., 1985)。

胆囊收缩素对动物行为的影响还与其在体内的受体分布有关。CCK 在体内的受体主要有两种: CCK-A(或 CCK-1)受体与 CCK-B(或 CCK-2)受体。CCK-A 受体广泛分布于外周器官, 在部分脑区也有少量分布, 对 CCK-8 有高度的亲和性, 对 CCK 其他形式的亲和力较弱。而 CCK-B 受体是脑区内 CCK 的主要受体形式, 它与 CCK 的各种形式都有较高的亲和力(van Dijk, Richards, Trzeciak, Gillissen, & Möhler, 1984; Fink, Rex, Voits, & Voigt, 1998)。目前一般认为 CCK-B 受体则更多影响动物的认知与焦虑行为(Hernandez-Gómez, Aguilar-Roblero, & Pérez de la Mora, 2002), 有报道 CCK-8 并不能透过血脑屏障(Zhu, Greeley, Lewis, Lilja, & Thompson, 1986), 因而本实验中注射的 CCK-8 可能大部分与外周的 CCK-A 受体结合, 并没有进入脑区与脑内的 CCK-B 受体结合, 因而未能对动物的焦虑等行为产生影响。

4.3 比较外周与中枢细胞因子水平与病态/抑郁行为的关系应是今后深入研究的重点

研究者认为由免疫系统激活产生的外周细胞因子可通过直接和间接两种途径进入脑区(Dunn, 2006)。直接途径包括细胞因子经脑室周围器官、下丘脑终板血管区、正中隆突等血脑屏障结构薄弱处进入大脑; 也可由特定蛋白质将细胞因子转运入

脑内。透过血脑屏障之后,细胞因子可与神经元及胶质细胞表面的细胞因子受体结合发挥作用。间接途径是通过血管内皮细胞、迷走神经等将其信号传入大脑。近年来发现,在应激和损伤的情况下,中枢神经系统的星形胶质细胞和小胶质细胞能产生细胞因子及其受体,包括一些应激敏感区域如海马、下丘脑、前额叶皮质和杏仁核(Hanisch, 2002)。中枢合成的前炎性细胞因子包括 IL-1, IL-6, TNF- α 和 IFN- γ , 它们参与有关疾病的认知、情绪和情感过程。与外周细胞因子相比,可能在病态/抑郁行为中起更重要的作用(林文娟,王东林,潘玉芹,2008)。比较外周与中枢细胞因子水平与病态/抑郁行为的关系对了解细胞因子在抑郁症中的确切作用十分重要,应是今后深入研究的重点。

5 结论

综上所述,本实验通过脂多糖免疫激活的病态行为模型,研究了八肽胆囊收缩素对大鼠的病态行为及外周细胞因子水平的影响。脂多糖诱发了大鼠出现病态行为,并引起大鼠外周细胞因子(IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α)分泌的增加。在脂多糖注射前对大鼠注射八肽胆囊收缩素有效地降低了细胞因子(IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α)的外周浓度,但并不能缓解脂多糖诱发的病态行为。结果提示拮抗外周产生的细胞因子并不能有效改变动物出现的病态行为。本工作仅研究了外周细胞因子的浓度变化与病态行为的关系,有关脑区的细胞因子水平变化与病态/抑郁行为的关系尚需进一步考察。

参 考 文 献

- Bradwejn, J. (1993). Neurobiological investigations into the role of cholecystokinin in panic disorder. *Journal of Psychiatry & Neuroscience*, 18, 178-188.
- Brietzke, E., Stertz, L., Fernandes, B. S., Kauer-Sant'Anna, M., Mascarenhas, M., & Vargas, A. E. (2009). Comparison of cytokine levels in depressed, manic and euthymic patients with bipolar disorder. *Journal of Affective Disorders*, 116, 214-217.
- Dantzer, R. (2004). Cytokine-induced sickness behaviour: a neuroimmune response to activation of innate immunity. *European Journal of Pharmacology*, 500, 399-411.
- Dantzer, R. (2009). Cytokine, sickness behaviour, and depression. *Immunology and allergy clinics of North America*, 29, 247-264.
- Dhabhar, F. S., Burke, H. M., Epel, E. S., Mellon, S. H., Rosser, R., & Reus, V. I. (2009). Low serum IL-10 concentrations and loss of regulatory association between IL-6 and IL-10 in adults with major depression. *Journal of Psychiatric Research*, 43, 962-969.
- Du, J., Zhang, L. F., & Qin, C. (2007). Progress on the function of cholecystokinin. *Chinese Journal of Comparative Medicine*, 17(4), 233-236.
- [杜静, 张连峰, 秦川. (2007). 胆囊收缩素作用的研究进展. *中国比较医学杂志*, 17(4), 233-236.]
- Dunn A.J. (2006). Effects of cytokines and infections on brain neurochemistry. *Clinical Neuroscience Research*, 6, 52-68.
- Fink, H., Rex, A., Voits, M., & Voigt, J. P. (1998). Major biological actions of CCK--a critical evaluation of research findings. *Experiment Brain Research*, 123, 77-83.
- Hanisch, U. K. (2002). Microglia as a source and target of cytokines. *Glia*, 40, 140-155.
- Hernandez-Gómez, A. M., Aguilar-Roblero, R., & Pérez de la Mora, M. (2002). Role of cholecystokinin-A and cholecystokinin-B receptors in anxiety. *Amino Acids*, 23, 283-290.
- Katsuura, G., Itoh, S., & Hsiao, S. (1985). Specificity of nucleus accumbens to activities related to cholecystokinins in rats. *Peptides*, 6, 91-96.
- Köks, S., Männistö, P. T., Bourin, M., Shlik, J., Vasar, V., & Vasar, E. (2000). Cholecystokinin-induced anxiety in rats: relevance of pre-experimental stress and seasonal variations. *Journal of Psychiatry & Neuroscience*, 25, 33-42.
- Kronfol, Z. & Remick, D. G. (2000). Cytokines and the brain: implications for clinical psychiatry. *The American Journal of Psychiatry*, 157, 683-694.
- Larsson, L. I. & Rehfeld, J. F. (1979). Localization and molecular heterogeneity of cholecystokinin in the central and peripheral nervous system. *Brain Research*, 165, 201-218.
- Lin, W. J., Wang, D. L., & Pan, Y. Q. (2008). Depression Research of Psychoneuroimmunology: the Role of Cytokines. *Advances in Psychological Science*, 16, 404-410.
- [林文娟, 王东林, 潘玉芹. (2008). 抑郁症的心理神经免疫学研究: 细胞因子的作用. *心理科学进展*, 16, 404-410.]
- Ling, Y. L., Meng, A. H., Zhao, X. Y., Shan, B. E., Zhang, J. L., & Zhang, X. P. (2001). Effect of cholecystokinin on cytokines during endotoxic shock in rats. *World Journal of Gastroenterology*, 7, 667-671.
- Meng, A. H., Ling, Y. L., Zhang, X. P., & Zhang, J. L. (2002). Anti-inflammatory effect of cholecystokinin and its signal transduction mechanism in endotoxic shock rat. *World Journal of Gastroenterology*, 8, 712-717.
- Meng, A. H., Ling, Y. L., Zhang, X. P., Zhao, X. Y., & Zhang, J. L. (2002). CCK8 inhibits expression of TNF- α in the spleen of endotoxic shock rats and signal transduction mechanism of p38 MAPK. *World Journal of Gastroenterology*, 8, 139-143.
- Mesquita, A. R., Correia-Neves, M., Roque, S., Castro, A. G., Vieira, P., & Pedrosa, J., et al. (2008). IL-10 modulates depressive-like behavior. *Journal of Psychiatric Research*, 43, 89-97.
- Miller, A. H., Maletic, V., & Raison, C. L. (2009). Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. *Biological Psychiatry*, 65, 732-741.
- Reichenberg, A., Yirmiya, R., Schuld, A., Kraus, T., Haack, M., Morag, A., & Pollmächer, T. (2001). Cytokine-associated emotional and cognitive disturbances in humans. *Archives of General Psychiatry*, 58, 445-452.
- Rex, A., Barth, T., Voigt, J. P., Domeney, A. M., & Fink, H.

- (1994). Effects of Cholecystokinin Tetrapeptide and sulfated cholecystokinin-octapeptide in rat models of anxiety. *Neuroscience Letters*, 172, 139–142.
- Pan, Y. Q., Wang, D. L., & Lin, W. J. (2007). Animal research on immunity activation-induced depressive-like behavior: Doses and time effects. *Acta Psychologica Sinica*, 39, 1041–1047.
- [潘玉芹, 王东林, 林文娟. (2007). 脂多糖免疫激活导致抑郁性行为的动物研究: 剂量和时程效应. *心理学报*, 39, 1041–1047]
- Schneider, R., Osterburg, J., & Buchner, A. (2009). Effect of intranasally administered cholecystokinin on encoding of controlled and automatic memory processes. *Psychopharmacology*, 202, 559–567.
- Smith, A., Tyrrell, D., Coyle, K., & Higgins, P. (1988). Effects of interferon alpha on performance in man: a preliminary report. *Psychopharmacology*, 96, 414–416.
- Teeling, J. L., Felton, L. M., Deacon, R. M. J., Cunningham, C., Rawlins, J. N. P., & Perry, V. H. (2007). Sub-pyrogenic systemic inflammation impacts on brain and behavior, independent of cytokines. *Brain Behavior and Immunity*, 21, 836–850.
- van Dijk, A., Richards, J. G., Trzeciak, A., Gillesse, D., & Möhler, H. (1984). Cholecystokinin receptors: biochemical demonstration and autoradiographical localization in rat brain and pancreas using [³H] cholecystokinin8 as radioligand. *Journal of Neuroscience*, 4, 1021–1033.
- Yoshimura, R., Hori, H., Ikenouchi-Sugita, A., Umene-Nakano, W., Ueda, N., & Nakamura, J. (2009). Higher plasma interleukin-6 (IL-6) level is associated with SSRI- or SNRI-refractory depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 33, 722–726.
- Zetler, G. (1982). Ceruletide, Ceruletide analogues and cholecystokinin octapeptide(CCK-8): effects on motor behaviour, hexobarbital-induced sleep and harman-induced convulsions. *Peptides*, 3, 701–704.
- Zhu, X. G., Greeley Jr., G. H., Lewis, B. G., Lilja, P., & Thompson, J. C. (1986). Blood-CSF barrier to CCK and effect of centrally administered bombesin on release of brain CCK. *Journal of Neuroscience Research*, 15, 393–403.

The Effect of Cholecystokinin Octapeptide on Lipopolysaccharide-induced Sickness Behavior and Peripheral Cytokine Secretion

KUANG Xue-Ying; LIN Wen-Juan; WANG Dong-Lin; QI Xiao-Li; PAN Yu-Qin; SUN Han; XIE Xi

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

Abstract

Cytokines have been considered to be involved in the pathology of sickness behavior, but the role of peripheral cytokines in the pathology of sickness behavior is still elusive. Cholecystokinin octapeptide (CCK-8) has been proved to inhibit the lipopolysaccharide (LPS)-induced secretion of peripheral proinflammatory cytokines in rats. Aim: To investigate the role of peripheral cytokines in the pathology of sickness behavior. Methods: The experiment included two parts. In Experiment 1, forty-six rats were randomly divided into 4 groups: control, LPS, CCK-40+LPS and CCK-40, each group comprised twelve rats except ten rats for the control group, and in Experiment 2 forty-eight rats were randomly divided into six groups: control, LPS, CCK-20+LPS, CCK-40+LPS, CCK-80+LPS, CCK-120+LPS, each group comprised eight rats. The CCK groups were injected with different dosages of CCK-8 solution (20μg/kg, 40μg/kg, 80μg/kg and 120μg/kg doses respectively, i.p.) half an hour before the injection of LPS (200μg/kg, i.p.), and then 2 hours after the LPS injection, the sickness behavior was measured in behavioral experiments (including the sugar-water consumption test, open field test, and elevated plus maze test), and the cytokines in serum were analyzed by immunoassays. Results: LPS induced sickness behavior: LPS group consumed less sugar water and exhibited less activities in open field test and elevated plus maze test when compared with the controls; LPS also significantly increased cytokine production including IL-1β, IL-6 and TNF-α. However, the LPS-induced sickness behavior could not be attenuated by CCK-8, though CCK-8 significantly inhibited the LPS-induced proinflammatory cytokines of IL-1β, IL-6 and TNF-α compared to the LPS group. Conclusion: The inhibition of the secretion of peripheral proinflammatory cytokines can not antagonize the lipopolysaccharide-induced sickness behavior. The peripheral proinflammatory cytokines might be not directly responsible for the sickness behavior. The cytokines acting in brain may be more related to the sickness behavior, which needs further investigation.

Key words Cholecystokinin octapeptide; Lipopolysaccharide; Interleukin-1β; Interleukin-6; Interleukin-10; Tumor necrosis factor-α; Sickness behavior