

# 慢性应激对小鼠学习记忆及免疫细胞的影响

马颖<sup>1</sup>, 卢莉<sup>2</sup>, 薛朝霞<sup>2</sup>, 袁洁<sup>2</sup>

(1.山西医科大学第一医院神经外科,山西 太原 030001;

2.山西医科大学医学心理学教研室,山西 太原 030001)

**【摘要】** 目的:观察慢性应激对小鼠学习记忆的影响以及脾组织中 T 细胞亚群 CD4、CD8 水平的变化。方法:采用束缚制动的办法建立慢性应激模型,应激结束后采用 Morris 水迷宫实验观察应激状态下小鼠的学习记忆能力;处死,采用流式细胞仪检测小鼠脾组织中 CD4<sup>+</sup>T 细胞、CD8<sup>+</sup>T 细胞的数量以及 CD4/CD8 比值。结果:应激组小鼠在 Morris 水迷宫中逃避潜伏期较对照组显著延长( $P<0.01$ ),第一象限的游泳时间比例显著小于对照组( $P<0.01$ ),小鼠脾淋巴细胞悬液中 CD4<sup>+</sup>T 细胞明显低于对照组( $P<0.05$ ),而 CD8<sup>+</sup>T 细胞高于对照组( $P<0.05$ )及 CD4/CD8 比值低于对照组( $P<0.05$ )。结论:慢性应激可以导致机体学习记忆能力减退,抑制细胞免疫功能,容易导致机体产生疾病。

**【关键词】** 慢性应激;学习记忆;免疫细胞

中图分类号: R395.1

文献标识码: A

文章编号: 1005-3611(2009)04-0394-02

## Effect of Chronic Psychological Stress on Learning and Memory in Mice and the Impact of Immune Cells

MA Ying, LU Li, XUE Zhao-xia, YUAN Jie

Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

**【Abstract】 Objective:** To observe the effect of chronic psychological stress on change of function of learning and memory, and CD4, and CD8 in mice. **Methods:** 50 BALB/c mice were randomly divided into control group and immobilization stress group ( $n=25$  in each group). The mice mode of stress was made by restraint for 6 hours per day. Suspend tail test was performed on change of behaviors in mice. RIA was employed to measure levels of neuropeptide Y in the brain. **Results:** Compared with the control group, the mean escape latency of the mice in the chronic restraint groups was longer than that of the control mice ( $P<0.01$ ), the average percentages of the swimming time in the platform quadrant in the restraint group were less than those in the control group ( $P<0.01$ ). Chronic stress significantly decreased levels of CD4 ( $P<0.05$ ), and CD4/CD8 ( $P<0.05$ ), while CD8 increased. **Conclusion:** Chronic psychological stress can lead to learning and memory diminish, and inhibit the cellular immune function, thus the body easily lead to a disease.

**【Key words】** Chronic psychological stress; Learning and memory; Immune cell

海马与学习和记忆功能密切相关。慢性应激可以损伤海马,引起海马依赖的长时记忆功能损害<sup>[1]</sup>。应激通过改变海马突触可塑性,树突的形态,神经毒性和神经形成等方式影响学习和记忆的基本过程<sup>[2]</sup>。研究显示由于慢性心理应激产生的长期反应对海马有毒性作用,造成海马细胞的萎缩和凋亡,导致啮齿类动物和人类空间记忆的损伤<sup>[3]</sup>。动物实验证实睡眠剥夺大鼠的学习记忆功能下降<sup>[4]</sup>。另外,长期处于应激状态可导致机体免疫功能下降,包括细胞免疫和体液免疫功能抑制<sup>[5]</sup>。实验证实<sup>[6]</sup>,心理应激状态下自然杀伤细胞(NK)的数目或活性降低,T 效应细胞功能和淋巴细胞增殖功能、单核细胞吞噬抗原能力下降及 T 细胞亚群数目与比值的改变等,导致细胞免疫功能的下降。本次研究通过建立慢性应激模型,探讨慢性应激对学习记忆、免疫功能影响及其可

能的影响机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 动物 BALB/c 小鼠引自中国疾病预防控制中心实验动物研究所,微生物级别为二级。引入后在一级动物实验室内饲养繁殖,保持近交。

1.1.2 试剂与仪器 PE anti-mouse CD8、FITC anti-mouse CD4, 购自美国 Biolegend 公司。淋巴细胞分离液, Q/GHSB85-2001, 购自上海恒信化学试剂有限公司。全自动双激光四色流式细胞仪, 碧迪医疗器械(上海)有限公司。Morris 水迷宫(Morris Water Maze, MWM)由圆形水池、圆柱形平台两部分组成,水池直径 1.2 米,高 0.5 米的圆筒,池壁漆成乳白色,圆柱形平台直径为 9cm,高 27cm。

### 1.2 实验方法

1.2.1 动物分组与处理 健康清洁级 8-10 周龄

**【基金项目】** 山西省自然科学基金资助项目(051089)

通讯作者: 卢莉

BALB/c 小鼠 50 只,雌雄各半,体重  $22\pm 3\text{g}$ ,随机(按随机数字表)分为对照组和应激组,每组 25 只。

1.2.2 慢性应激动物模型 利用自制的束缚筒,用 50ml 注射器改装,筒壁上的不同部位钻有直径 3mm 的小孔,可以让小鼠自由呼吸,筒壁从尾向头剪去 5mm 宽,70mm 长的一条缺口,有助于小鼠自由进入筒内。每日束缚 6 小时,连续 2 周,每次开始束缚的时间不同。束缚期间禁食、禁水,造模结束后在动物清醒、安静状态下进行实验。

1.2.3 Morris 水迷宫<sup>[7]</sup>实验 在造模结束后第一天进行水迷宫实验,一共进行三天,分为空间学习训练和空间搜索测试。①空间学习训练:记录动物入水至发现并爬上平台的时间为逃避潜伏期,每次训练 120 秒,每 3 次的均值作为一次平均训练潜伏期,第一天训练 9 次,第二天重复训练 6 次,两次间隔时间为 24 小时,共得出 5 个平均训练潜伏期,作为空间学习能力。②空间搜索测试:第三天将平台移走,任选一个点,将小鼠放入水中停留 2min,记录它在四个象限中停留时间的百分比,将其作为小鼠的空间记忆能力。

1.2.4 T 细胞亚群 CD4、CD8 水平 制备脾淋巴细胞悬液,调至  $5\times 10^6/\text{ml}$ ,滴加用 FITC 标记的 CD4 小鼠单克隆抗体,2ul/管,用 PE 标记的 CD8 小鼠单克隆抗体,5ul/管,上机检测。

## 2 结 果

### 2.1 Morris 水迷宫实验

2.1.1 空间学习训练 在 5 次的平均训练潜伏期中,应激组始终比正常对照组延长。从第 3 次开始,对照组的逃避潜伏期每次较前一次进步,显著低于应激组( $P<0.05$ )。在第 4、5 次,应激组的逃避潜伏期逐步长于对照组,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。见表 1。

表 1 Morris 水迷宫空间学习训练时间( $\bar{x}\pm s$ ,s)

组别	N	1	2	3	4	5
对照组	25	78.00±11.55	77.75±10.47	52.25±10.21	42.25±7.72	40.25±4.35
应激组	25	84.75±10.05	86.50±10.25	71.25±6.99*	75.00±6.83**	68.00±2.75**

注:与对照组比较 \* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$

表 2 Morris 水迷宫不同象限停留时间百分比( $\bar{x}\pm s$ ,%)

组别	N	A	B	C	D
对照组	25	44±6	21±3**	18±3**	16±5**
应激组	25	25±5##	28±6	23±7	23±8

注:A 为平台所在象限,与 A 比较 \* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与对照组比较 # $P<0.05$ ,## $P<0.01$

2.1.2 空间搜索实验 平台在第一象限(A),撤去平台后,对照组在第一象限游泳时间最多,高于应激组

( $P<0.01$ ),并且明显高于 B、C、D 象限花费的时间百分比( $P<0.01$ )。应激组在四个象限花费的时间百分比无显著差异( $P>0.05$ )。见表 2。

### 2.2 应激对 T 细胞亚群 CD4、CD8 的影响

与正常对照组相比,应激组 CD4 细胞数量明显减少( $P<0.05$ ),CD8 细胞数量明显增多( $P<0.05$ ),CD4/CD8 比值明显降低( $P<0.05$ )。见表 3。

表 3 应激对小鼠脾脏组织中 T 细胞亚群的影响( $\bar{x}\pm s$ )

组别	N	CD4 (%)	CD8 (%)	CD4/CD8
对照组	25	23.25±7.13	8.14±2.07	3.00±0.18
应激组	25	18.49±2.12*	9.48±1.32*	1.69±0.14*

注:与正常对照组相比,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$

## 3 讨 论

研究发现,慢性应激在多数情况下有损伤动物空间学习和记忆力的作用<sup>[8,9]</sup>。慢性间歇性缺氧可导致大鼠认知功能下降<sup>[10]</sup>。同时,在应激过程中,机体内皮质酮、肾上腺素和其他广泛的神经递质也会引起学习和记忆功能的减退<sup>[11]</sup>。Morris 水迷宫是一种研究与海马功能直接相关的空间学习记忆模型,能较准确的反映动物的空间学习记忆能力<sup>[12]</sup>。隐藏平台实验反映动物对平台空间位置的记忆,评价动物的空间学习记忆能力,逃避潜伏期延长提示学习能力的降低,显示其学习和记忆的获得与巩固过程受到影响;空间探索实验用于测试小鼠记忆保持的能力。本实验结果提示应激后小鼠的学习记忆能力降低。

对应激引起 T 淋巴细胞亚群的变化研究具有一定的理论及临床意义。正常免疫应答的形成,有赖于 T 淋巴细胞亚群之间的相互促进或相互制约,T 淋巴细胞亚群借助其相互拮抗作用调节着免疫应答过程,以保持免疫功能的平衡。一旦这种平衡失调,即可导致免疫功能紊乱及一系列病理变化。研究证实应用免疫组织化学法检测应激大鼠外周血 T 淋巴细胞亚群的阳性率,发现束缚+浸水应激可显著降低大鼠血液 TCD3<sup>+</sup>、TCD4<sup>+</sup>细胞的百分率,而 TCD8<sup>+</sup>细胞百分率提高,抑制了机体细胞免疫功能<sup>[13]</sup>。

### 参 考 文 献

- 1 Song L, Che W, Min W, et al. Impairment of the spatial learning and memory induced by learned helplessness and chronic mild stress. Pharmacology, Biochemistry, and Behavior, 2006, 83: 186-193
- 2 Proliferation of granule cell precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminished by stress. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95: 3168-3171

(下转第 399 页)

现,虽然钢琴学习对老年人的加工速度和工作记忆都有一定的促进作用,却对流体智力的影响不显著,这可能与智力的稳定性有关,也提示我们短期的音乐活动或训练对智力提高的作用有限。此外,本研究得到流体智力与年龄相关不显著,这与已有的研究结论不太一致<sup>[17]</sup>。考虑到智力的发展与变化是一个较为缓慢的过程,此结果可能与样本太小,年龄跨度不够大有关。(感谢广州市老年干部大学的领导、老师和学员的大力支持与配合。)

## 参 考 文 献

- Psychomusicology(Special Issue). The psychology of music and aging. Psychogeromusicology, 2002, 18;
- 马娟. 现代老年人智力的衰退与发展—关于卡特尔晶体智力—液体智力理论的质疑. 心理学探新, 2004, 1: 54-58
- Bruhn. Musical development of elderly people. Psychomusicology(Special Issue):The psychology of music and aging. Psychogeromusicology, 2002, 18: 59-75
- Johansson BB. Music, Age, Performance and Excellence: A Neuroscientific Approach. Psychomusicology(Special Issue): The psychology of music and aging. Psychogeromusicology, 2002, 18: 46-55
- Meinz EJ. Experience-based attenuation of age-related differences in music cognition tasks. Psychology and Aging, 2000, 15(2): 297-312
- 周世杰, 张拉艳, 杨娟. 工作记忆成套测验的编制及在小学生中的初步效度分析. 中国临床心理学杂志, 2005, 3: 12-15
- 李德明, 刘昌, 陈天勇, 等. 加工速度和工作记忆在认知毕生发展过程中的作用. 南京师大学报(社会科学版), 2004, 1: 81-86
- 张拉艳, 周世杰, 杨娟. 工作记忆成套测验在中老年人群中应用的效度分析. 中国行为医学科学, 2007, 16(4): 308-310
- Salthouse TA. The processing-speed theory of adult age differences in cognition. Psychological Review, 1996, 103: 403-428
- Salthouse TA. Differential age-related influences on memory for verbal-symbolic information and visual-spatial information. Journal of Gerontology: Psychological Sciences, 1995, 50: 193-201
- Gilinsky AS, Judd BB. Working memory and bias in reasoning across the life span. Psychology and Aging, 1994, 9: 356-371
- Swanson HL. What develops in working memory? A life span perspective. Developmental Psychology, 1999, 35: 986-1006
- 彭华茂, 申继亮, 王大华. 认知老化过程中视觉功能、加工速度和工作记忆的关系. 中国老年学杂志, 2006, 26: 1-3
- Kyllonen, et al. Reasoning ability is (little more than) working-memory capacity?! Intelligence, 1990, 14: 389-433
- 周世杰, 杨娟, 张拉艳. 工作记忆、执行功能、加工速度与数学障碍儿童推理和心算能力的关系. 中国临床心理学杂志, 2006, 14(6): 574-577
- 刘彤冉, 施建农. 9-11 岁儿童的工作记忆和智力、创造力之间关系的研究. 中国临床心理学杂志, 2007, 15(2): 164-167
- Conway, et al. A latent variable analysis of working memory capacity, short-term memory capacity, processing speed, and general fluid intelligence. Intelligence, 2002, 30: 163-183
- (收稿日期: 2008-12-15)
- (上接第 395 页)
- Lucaasen PJ, Fuchs E, Czeh B. Antidepressant treatment with tianeptine reduces apoptosis in the hippocampal dentate gyrus and temporal cortex. Biol Psychiatry, 2004, 55(8): 789-796
- 杨国愉, 皇甫恩, 张大均, 等. 人参皂甙对睡眠剥夺大鼠学习记忆和活动性的影响. 中国临床心理学杂志, 2007, 15(1): 81-84
- Williams, Baker. Effect so predator-induced stress and age on working memory in rats. Psychological Record, 1998, 48(3): 347-355
- 邹涛, 程明, 朱熊兆, 等. 急性心理应激对小鼠学习记忆的影响. 中国行为医学科学, 2005, 14: 23-25
- Hooge DR, De Deyn PP. Application of the Morris water maze in the study of learning and memory. Brain Res Rev, 2001, 36: 60-90
- Wolf OT. HPA axis and memory. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2003, 17: 287-299
- Wright RL, Conrad CD. Chronic stress leaves novelty-seeking behavior intact while impairing spatial recognition memory in the Y-maze. Stress, 2005, 8: 151-154
- 杨宇, 谭胜玉, 张新民, 等. 慢性间歇性缺氧对认知功能及海马 CA1 区 IGF-1 表达的影响. 中国临床心理学杂志, 2007, 15(1): 85-88
- Pavlidis C, Nivon LG, McEwen BS. Effects of chronic stress on hippocampal long-term potentiation. Hippocampus, 2002, 12: 245-57
- Gandhi CC, Kelly 1 RM, Wiley RG, et al. Impaired acquisition of a morris water maze task following selective destruction of cerebellar purkinje cells with OX7-saporin. Behav Res, 2000, 109: 37-47
- 陈蕾, 陈文芳, 陶尚敏, 等. 应激对大鼠血浆唾液酸水平及免疫功能影响的研究. 中国行为医学科学, 2000, 9(1): 9-10
- (收稿日期: 2008-12-31)