

吗啡行为及条件性行为敏感化效应及其个体差异*

郑希耕 李勇辉 罗小景 肖琳 杨小燕 隋南

(中国科学院心理研究所, 心理健康重点实验室, 北京 100101)

摘 要 目的: 考察吗啡处理下, 大鼠行为敏感化及条件性行为敏感化效应及其个体差异性表现。方法: 根据大鼠在初次抵达的新颖环境中水平活动量的高低, 将大鼠划分为高反应大鼠 (High responder, HR) 和低反应大鼠 (Low responder, LR)。应用自动监测大鼠活动箱, 分别考察 HR 和 LR 大鼠在行为及条件性行为敏感化效应形成及表达上的差异。结果: (1) 连续 5 天吗啡给药, LR 大鼠活动量显著升高, HR 大鼠无此效应; (2) 条件测试日 (第 6 天), 给药与环境匹配大鼠, 活动量较给药与环境非匹配组动物和对照组动物显著为高; 此效应在 HR 和 LR 大鼠同时存在; (3) 从给予吗啡到给予盐水 LR 大鼠活动量显著下降, 而 HR 大鼠活动量无显著改变。结论: 在连续给药下, LR 大鼠较 HR 大鼠, 在行为敏感化效应的形成中, 具有更为显著的效应, 此效应为 LR 动物对吗啡更高的药物效应, 而非条件效应所致。同时 HR 和 LR 大鼠都可以对吗啡条件性线索产生应答, 产生条件性行为敏感化效应。

关键词 吗啡, 行为敏感化, 条件性行为敏感化, 个体差异。

分类号 B845

1 引言

行为敏感化是成瘾的重要行为反应, 表现为在重复给药下, 动物表现出越来越高的精神兴奋性运动效应^[1, 2], 这种越来越高的精神兴奋性效应的基础是脑内长时程的神经适应性改变 (neuroadaptation), 这种改变被认为是产生药物依赖和依赖后复吸的生物学基础^[3]。

应用可卡因、安非他明、吗啡、酒精等成瘾药物对大鼠进行重复给药处理, 可以导致动物出现行为敏感化效应^[4-9], 甚至在前处理 (pretreatment) 中只对动物进行一次性给药处理, 动物在三周之后, 依然可以出现行为敏感化效应并伴随以相应的脑内生化改变, 例如在伏隔核 (Nucleus Accumbens, NAC) 出现多巴胺 (dopamine, DA) 和乙酰胆碱神经元的持续高反应性^[10]。

在药物成瘾研究领域一个引人注目的事实是成瘾行为效应的个体差异。给予动物同样的药物处理, 应用不同的行为学模型, 例如自我给药模型 (Self-administration, SA)^[11, 12], 条件性位置偏爱模

型 (Conditioned place preference, CPP)^[13, 14], 精神运动兴奋性模型 (Locomotor activity, LA)^[15] 等, 都可以发现个体差异性的表现。

在以往关于行为敏感化及其个体差异的研究中, 应用吗啡进行行为敏感化个体差异研究的报告有限, 而应用吗啡进行条件性行为敏感化效应个体差异的研究目前还未见报道。同时以往应用精神兴奋剂进行的研究结果也呈现出一定的变异。例如 Hooks 等人^[16] 发现, 通过动物在初次抵达的新颖环境中水平活动量的高低筛查出的高反应大鼠 (High responders, HR) 比低反应大鼠 (Low responders, LR) 对安非他明 (AMPH) 有着更为强烈的行为敏感化效应。但是也有研究者发现, LR 大鼠的行为敏感化效应更高^[12, 17]。值得注意的是, 上述研究结果都是在连续地给药与环境相匹配的情况下获得的, 而在连续给药和环境相匹配的情况下, 动物较高的活动性可能同时存在着对药物的无条件效应和因给药与环境匹配而产生的激动性条件反射的成分。实验在连续 5 天给予药物的情况下, 在第 6 天给予动物盐水, 考察动物活动性的改变, 以确定先天特征不同

收稿日期: 2004-02-04

* 国家重点基础研究发展计划 (2003CB5154004), 国家自然科学基金 (30170324 No. 30230130), 中国科学院知识创新工程重要方向项目 (KSCX2-SW-204-2) 资助。

通讯作者: 隋南, E-mail: suin@psych.ac.cn; 电话: 010-64850858; 传真: 010-64857369

的大鼠, 其对药物和对给药相关线索是否存在差异性反应。考虑到阿片类药物在亚洲的滥用^[18 19], 其成瘾机制和精神兴奋剂的不同^[20 21], 以及阿片类药物在临床上使用的一定的必要性, 我们选择吗啡作为研究使用的药物。

研究有下列三个主要研究目的: (1) 考察在行为敏感化建立的过程中, 具有先天不同运动特征的 HR 和 LR 大鼠的行为敏感化效应; (2) 考察吗啡诱导的条件性行为敏感化行为的表达及此效应在 HR 和 LR 大鼠间的异同; (3) 考察 HR 和 LR 大鼠对药物及药物相关条件线索反应的异同。

多数研究者认为有药物接触史的动物或人, 在纳络酮催瘾情况下, 或者在自然戒断情况下出现躯体戒断症状, 可被视为形成躯体依赖。在本实验所应用的成瘾药物剂量及时程下, 在所有时点及自然戒断情况下, 均未出现躯体戒断症状, 因此可以认为, 本实验中接触成瘾药物的动物并未形成躯体依赖状态。

2 材料和方法

2.1 实验动物及药品

实验动物为雄性 SD 大鼠 43 只, 起始体重 400 ~ 480 克 (中国科学院遗传研究所实验动物中心提供; 许可证号: 199036)。动物在 50cm (长) × 22.5cm (宽) × 30cm (高) 的不锈钢笼中群居饲养, 每箱 8 只动物, 自由饮水进食。光周期为 8:00 (开) ~ 20:00 (关), 实验在光周期完成 (10:00 ~ 18:00)。实验室温度控制在 20 ~ 22 °C, 相对湿度为 40% 左右。正式实验开始前, 提前 3 天使动物适应实验主试人员的实验操作, 排除非实验特异性的应激因素。盐酸吗啡 (Morphine HCL) 由青海制药厂提供, 生理盐水溶解, 腹腔注射给药 (*ip*), 剂量为 5mg/kg 吗啡溶液及盐水注射容量全部为 1ml/kg。

2.2 实验装置及程序

2.2.1 大鼠在新颖环境中活动量测定 采用 40cm (长) × 40cm (宽) × 35cm (高) 的黑色有机玻璃运动箱进行大鼠精神兴奋性运动行为的测定。箱体四壁为磨砂面, 底板为大小为 1cm × 1cm 的栅格底面。动物在动物房适应 1 周。正式实验开始后, 将动物置于首次进入的运动箱中, 考察大鼠在 60 分钟内的自发活动量 (根据摄像头与监测箱的距离和监测视野大小计算, 每 4 个像素为 1cm, 以下皆以像素数计算动物活动量)。根据此活动量, 将高于和低于活动量中位数的 50% 大鼠定义为高运动性大鼠

(HR) 和低运动性大鼠 (LR)。上述将动物按照 50% 为界, 定义为 HR 和 LR 大鼠, 并研究动物此种先天行为特征及其个体差异与成瘾行为效应关系的分类方法, 已得到多数研究者的认可^[12, 22-25]。

2.2.2 大鼠行为敏感化及条件性行为敏感化测定装置 同“大鼠在新颖环境中活动量测定装置”。测定分为行为敏感化形成的测试阶段和条件性行为敏感化形成的测试阶段。将 HR 和 LR 大鼠各分为 3 组, 就给予药物和环境是否匹配, 将动物分成 6 组, 分别为 HR_匹配组 ($n=6$), LR_匹配组 ($n=7$), HR_非匹配组 ($n=7$), LR_非匹配组 ($n=7$), HR_对照组 ($n=8$), LR_对照组 ($n=8$)。

正式实验开始后, 从第 1 天到第 5 天为行为敏感化测试阶段。对于匹配组动物, 每天上午 10 点, 在测试箱中给予吗啡, 测试其 60 分钟内的活动量。晚 8 点, 匹配组动物在动物房饲养笼中给予盐水。对于非匹配组动物, 上午 10 点在测试活动箱中给予盐水, 测试其 60 分钟内的活动量。晚 8 点, 在动物房饲养笼中给予吗啡。对照组动物, 上午 10 点在测试活动箱中给予盐水, 测试动物在 60 分钟内的活动量。晚 8 点, 动物在动物房饲养笼中给予盐水。

实验第 6 天, 6 组动物分别给予和训练阶段相同容量的生理盐水注射, 测试大鼠在 60 分钟内在测试箱中的活动量, 此活动量为动物条件性行为敏感化的表达。

2.3 数据统计

应用 two-way ANOVA 重复测量方式统计 HR 和 LR 匹配大鼠在连续测量下形成的行为敏感化效应, 应用此统计方法考察从第 1 天到第 2 天给药, 从第 5 天给予药物到第 6 天给予盐水引起的动物活动量的改变。应用单变量方差分析 (one-way ANOVA) 方式考察在条件测试日 (第 6 天) 横断面上, 匹配组、非匹配组、对照组动物的精神兴奋性差异。应用单变量方差分析 (one-way ANOVA) 方式, 统计在条件测试日 (第 6 天) 横断面上, 在 HR 和 LR 内部, 匹配、非匹配、对照组动物的精神兴奋性运动的差异。

3 结果

3.1 连续吗啡处理下 HR 和 LR 动物形成的行为敏感化效应

在行为敏感化测试中, 发现不区分 HR 和 LR 大鼠, 在测试箱中给予药物的动物 (匹配组) 从整体上的精神兴奋性越来越高, 其中“组别”主效应显著, F

(1, 27) = 28.940, $p < 0.001$; “组别” × “测试”交互作用显著, $F(4, 108) = 23.509$, $p < 0.001$, “测试”主效应显著, $F(4, 108) = 6.175$, $p < 0.001$ 。结果表明连续给药使动物产生行为敏感化效应, 匹配给药动物的活动性比对照组显著为高。考察匹配组动物中的 HR 和 LR 动物分别和自己的对照组相比的运动性改变, 结果发现, 对于 HR 动物, “组别”主效应显著, $F(1, 12) = 43.280$, $p < 0.001$; “组别” × “测试”交互作用显著, $F(4, 48) = 9.493$, $p < 0.001$, 但“测试”主效应不显著, $p > 0.05$ 。对于 LR 动物, “组别”主效应显著, $F(1, 13) = 28.659$, $p < 0.001$; “组别” × “测试”交互作用显著, $F(4, 52) = 15.531$, $p < 0.001$, “测试”主效应显著, $F(4, 52) = 6.057$, $p < 0.001$ 。上述结果表明, LR 大鼠在吗啡连续给药处理下, 形成了显著的行为敏感化效应, 而 HR 大鼠并未形成行为敏感化效应。(图 1)

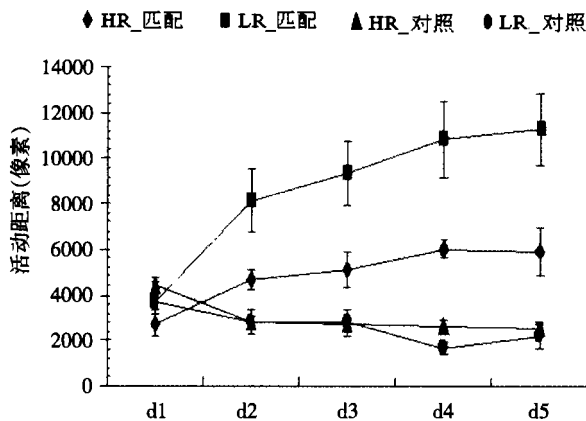


图 1 连续吗啡处理下 HR 和 LR 大鼠形成的行为敏感化效应 ($M \pm SEM$)

3.2 单次吗啡训练形成的 HR 和 LR 动物的差异反应

经过单次训练, 在第 2 天给药时, HR 和 LR 匹配动物对吗啡就存在着不同的反应, 其中“测试” × “组别”交互作用显著 ($F(1, 11) = 5.438$, $p < 0.05$)。简单效应分析表明, 尽管 HR 匹配组和 LR 匹配组动物经过和环境一次性匹配, 其精神兴奋运动性都显著上升, HR 匹配动物 ($F(1, 11) = 6.65$, $p < 0.05$), LR 匹配动物 ($F(1, 11) = 38.68$, $p < 0.01$), 但是 LR 动物运动量的上升较 HR 动物更为显著。(图 2)

3.3 吗啡的条件性行为敏感化效应及其个体差异表现

在第 6 天的横断面上, 动物从整体上看 (不区

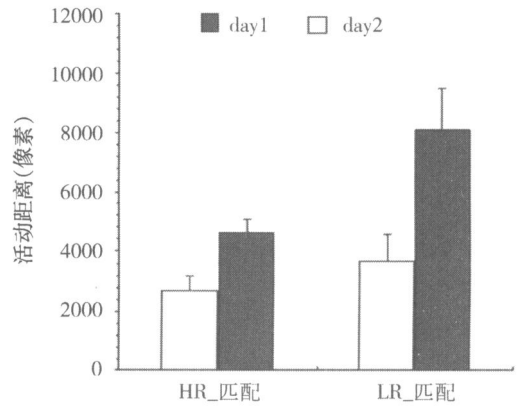


图 2 HR 和 LR 动物经过单次与环境匹配训练后的行为敏感化反应 ($M \pm SEM$)

分 HR 和 LR 动物)形成了行为敏感化效应。匹配组、非匹配组、盐水组三组之间差异的主效应显著 ($F(2, 40) = 12.508$, $p < 0.001$), 事后多重比较 (PostHoc)显示, 匹配组和盐水组比较差异显著 ($p < 0.01$), 非匹配组和盐水组比较无差异 ($p = 0.324$), 匹配组和非匹配组之间有差异 ($p < 0.01$), 表明吗啡处理可以使大鼠从整体上形成条件性行为敏感化反应。(图 3)

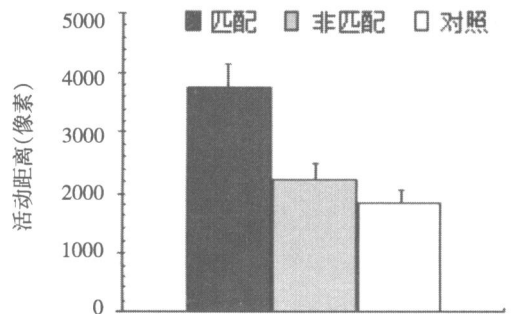


图 3 吗啡诱导的大鼠条件性行为敏感化反应 ($M \pm SEM$)

分别检验在 HR 和 LR 动物内部, 其匹配、非匹配、对照组动物在第 6 天的活动量, 发现在 HR 动物内部, 组间差异主效应显著 ($F(2, 18) = 6.019$, $p < 0.05$), 匹配组和盐水组相比有差异 ($p < 0.01$), 非匹配组和盐水组相比无差异 ($p > 0.05$), 匹配组和非匹配组相比有差异 ($p < 0.05$)。在 LR 组内部, 组间差异主效应显著 ($F(2, 19) = 9.968$, $p < 0.01$), 匹配组和盐水组相比有差异 ($p < 0.01$), 非匹配组和盐水组相比无差异 ($p > 0.05$), 匹配组和非匹配组相比有差异 ($p < 0.01$) (图 4)。实验结果表明, HR 和 LR 动物都形成了条件性行为敏感化反应, 在此并没有体现出个体差异性。

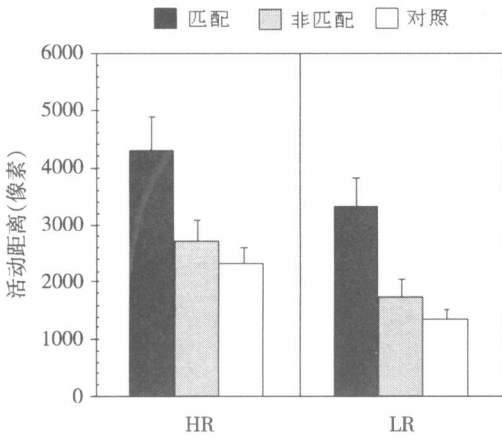


图 4 吗啡诱导 HR 和 LR 动物形成的条件性行为敏感化反应 ($M \pm SEM$)

3.4 HR 和 LR 匹配动物对给药和给予给药相关线索形成的差异反应

当我们在实验第 6 天给予盐水也即进行条件化测试时,发现动物运动量显著下降,“测试”主效应显著, $F(1, 11) = 22.182, p < 0.001$; HR 匹配动物和 LR 匹配动物存在显著不同的反应趋势,两组动物交互作用显著, $F(1, 11) = 9.875, p < 0.01$,其中 LR 匹配动物下降显著, $F(1, 11) = 33.40, p < 0.001$,HR 匹配动物下降不显著, $p > 0.05$ 。

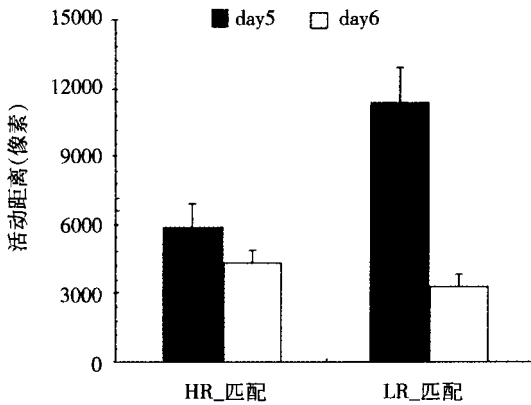


图 5 HR 和 LR 大鼠对给药和给予药物相关线索形成的差异反应 ($M \pm SEM$)

4 讨论

我们的研究表明,在连续 5 天吗啡与给药环境匹配处理下,LR 动物可以形成显著的行为敏感化效应,但 HR 动物不存在此效应。尽管这一研究结果和 Piazza 等人^[12]和 Exner 等人^[17]的研究结果有相似之处,但不同的是, Piazza 等人应用的是安非他明 (AMPH),其 HR 和 LR 差异反应的结果是在 5

~ 7 天连续给药的情况下获得的。我们的实验结果表明,应用吗啡,只经过一次性给药与环境的匹配训练,在第二次给药测试时,先天活动性不同的大鼠,在成瘾药物的作用下,其行为敏感化效应的个体差异便表现出来。尽管到目前为止我们并不清楚在 HR 和 LR 动物之间到底是什么神经学底物之间的差异,导致了这种不同的敏感化效应的产生,但结果明确提示,动物某些先天不同的行为学特征,决定了动物对药物不同的敏感性。正像我们在序言中讲到的一样,在我们实验中第 2 天测试的情况下(连续 2 天给药),其活动量中可能存在两种成分,一是对药物的无条件反应^[5],二是环境线索引起的因为给药(无条件刺激)和环境匹配产生的兴奋性条件反射的运动成分^[4],至此,我们并不知道,导致 LR 匹配动物对吗啡的高反应,到底是对药物的高反应,还是对环境线索的高反应;同时,如果两种反应成分都存在,那么哪种成分在其中起到权重更大的作用。

当我们在实验第 6 天给予盐水测试时,发现 LR 动物的活动量极为显著地下降,而 HR 动物在给予盐水后,尽管其活动量和第 5 天给予药物时相比也有所下降,但是其改变并不显著。这一结果提示,LR 匹配动物在连续给药情况下的高反应,是在对药物产生高反应,而不是对给药相关条件线索产生高反应。

在条件反应测试中,我们发现,从整体上看吗啡可以诱导大鼠形成显著的条件性行为敏感化效应,表现为动物经过给药与环境的匹配,其在第 6 天给予盐水的情况下,其活动量不仅比急性给药的对照组显著为高,并且比有着同样的给药史,而只是给药不与环境匹配的非匹配组动物,其活动量也显著为高。这一研究结果,和 Jodong 等人应用 AMPH 进行的研究是一致的^[22]。尽管在本实验中的条件测试日,不论是 HR 动物还是 LR 动物都形成了条件性行为敏感化效应,以致于我们的结果并没有直接显示出 HR 动物更高的条件反应性,这可能和本实验的行为训练程序、吗啡的剂量-效应关系,和水平运动距离作为行为敏感化指标其线性关系不强有关^[5]。同时,尽管 LR 动物比 HR 动物对药物存在着更高的运动反应性,但并不能排除 LR 动物依然有能力对给药相关环境线索进行反应。不管怎样,上述从第 5 天给药到第 6 天给予药物相关条件线索的连续测量中,可以明显地看出 LR 动物较之 HR 动物对药物的高反应性。

以往应用精神兴奋剂进行的研究表明,行为及

条件性行为敏感化的表达中,可能同时存在着连续给药情况下形成的神经敏感化,给药和环境匹配并由环境线索引发的激动性条件反射成分和在给药与环境非匹配情形之下形成的环境线索引发的抑制性条件反射等三种成分^[4,5],在上述三种成分中,可能同时存在着先天行为特征不同的动物之间的个体差异。这三种成分及其在 HR 和 LR 动物之间的不同的共同作用,可能最终形成了动物对成瘾药物行为及条件性行为敏感化效应及其个体差异的表现,导致这种行为学上个体差异的神经学基础值得做深入研究。

参 考 文 献

- 1 Stewart J, Badiani A. Tolerance and sensitization to the behavioral effects of drugs. *Behav Pharmacol* 1993, 4(4): 289~ 312
- 2 Robinson T E, Becker J B. Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration: a review and evaluation of animal models of amphetamine psychosis. *Brain Res* 1986, 396(2): 157~ 198
- 3 Robinson T E, Berridge K C. The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res Brain Res Rev* 1993, 18(3): 247~ 291
- 4 Anagnostaras S G, Schallert T, Robinson T E. Memory processes governing amphetamine-induced psychomotor sensitization. *Neuropsychopharmacology* 2002, 26(6): 703~ 715
- 5 Anagnostaras S G, Robinson T E. Sensitization to the psychomotor stimulant effects of amphetamine: modulation by associative learning. *Behav Neurosci* 1996, 110(6): 1397~ 1414
- 6 Hoshaw B A, Lewis M J. Behavioral sensitization to ethanol in rats: evidence from the Sprague-Dawley strain. *Pharmacol Biochem Behav* 2001, 68(4): 685~ 690
- 7 Mattingly B A, et al. Cocaine-induced behavioral sensitization: effects of haloperidol and SCH 23390 treatments. *Pharmacol Biochem Behav* 1996, 53(3): 481~ 486
- 8 Phillips T J, Roberts A J, Lessov C N. Behavioral sensitization to ethanol: genetics and the effects of stress. *Pharmacol Biochem Behav* 1997, 57(3): 487~ 493
- 9 Powell K R, Holtzman S G. Parametric evaluation of the development of sensitization to the effects of morphine on locomotor activity. *Drug Alcohol Depend* 2001, 62(1): 83~ 90
- 10 Vanderschuren L J, et al. A single exposure to morphine induces long-lasting behavioural and neurochemical sensitization in rats. *Eur J Neurosci* 2001, 14(9): 1533~ 1538
- 11 Klebaur J E, et al. Individual differences in behavioral responses to novelty and amphetamine self-administration in male and female rats. *Behav Pharmacol* 2001, 12(4): 267~ 275
- 12 Piazza P V, et al. Factors that predict individual vulnerability to amphetamine self-administration. *Science* 1989, 245(4925): 1511~ 1513
- 13 Klebaur J E, Bardo M T. Individual differences in novelty seeking on the playground maze predict amphetamine conditioned place preference. *Pharmacol Biochem Behav* 1999, 63(1): 131~ 136
- 14 Zheng Xigeng, et al. Susceptibility to morphine place conditioning relationship with stress-induced locomotion and novelty-seeking behavior in juvenile and adult rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2003, 75(4): 929~ 935
- 15 Deroche V, et al. Individual differences in the psychomotor effects of morphine are predicted by reactivity to novelty and influenced by corticosterone secretion. *Brain Res* 1993, 623(2): 341~ 344
- 16 Hooks M S, et al. Individual differences in amphetamine sensitization: dose-dependent effects. *Pharmacol Biochem Behav* 1992, 41(1): 203~ 210
- 17 Exner M, Clark D. Behaviour in the novel environment predicts responsiveness to d-amphetamine in the rat: a multivariate approach. *Behav Pharmacol* 1993, 4(1): 47~ 56
- 18 Cai Z J. Research on drug dependence and epidemiological investigation of drug abuse in China. *J Toxicol Sci* 1998, 23(Suppl 2): 191~ 193
- 19 Suwanwela C, Poshychinda V. Drug abuse in Asia. *Bull Narc* 1986, 38(1-2): 41~ 53
- 20 Wise R A. Neurobiology of addiction. *Curr Opin Neurobiol* 1996, 6(2): 243~ 251
- 21 Shalev U, Grimm J W, Shaham Y. Neurobiology of relapse to heroin and cocaine seeking: a review. *Pharmacol Rev* 2002, 54(1): 1~ 42
- 22 Jodogne C, et al. Animals predisposed to develop amphetamine self-administration show higher susceptibility to develop contextual conditioning of both amphetamine-induced hyperlocomotion and sensitization. *Brain Res* 1994, 657(1-2): 236~ 244
- 23 Gulley J M, Hoover B R, et al. Individual differences in cocaine-induced locomotor activity in rats: behavioral characteristics, cocaine pharmacokinetics, and the dopamine transporter. *Neuropsychopharmacology* 2003, 28(12): 2089~ 2101
- 24 Hooks M S, Jones G H, et al. Response to novelty predicts the locomotor and nucleus accumbens dopamine response to cocaine. *Synapse* 1991, 9(2): 121~ 128
- 25 Piazza P V, Deroche-Gamont V, et al. Vertical shifts in self-administration dose-response functions predict a drug-vulnerable phenotype predisposed to addiction. *J Neurosci* 2000, 20(11): 4226~ 4232

UNCONDITIONED AND CONDITIONED BEHAVIORAL SENSITIZATION OF REPEATED MORPHINE ADMINISTRATION: AN INDIVIDUAL DIFFERENCE STUDY IN RATS

Zheng Xigeng, Li Yonghui, Luo Xiaojing, Xiao Lin, Yang Xiaoyan, Sui Nan

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

Abstract

Behavioral sensitization has been defined as progressive increase of the rewarding and reinforcing effect of drugs of abuse, which has been considered to underlie the etiology of drug craving and relapse. **Aim:** To explore morphine behavioral sensitization and its conditioned effect with further investigation into potential individual difference manifestation. **Method:** Rats were characterized as high and low responders (HR vs. LR) via initial motor activity developed in an inescapable chamber. By using computer-interfaced monitoring system, the locomotor activities of rats were observed under 5-day successive drug treatment to test the development of morphine sensitization. Then a saline challenge was given on day 6 to test its conditioned effect. **Results:** 1. LR rats expressed increased locomotor activities while HR rats were without this effect upon repeated morphine exposure. 2. Rats successively with drug treatment in the test chamber (paired group) expressed heightened motor activity compared with unpaired and control group upon saline challenge. This effect existed in both HR and LR group. 3. Locomotor activity from toward drug to saline treatment significantly decreased in LR but not in HR rats. **Conclusion:** 1. Under successive drug treatment, LR, other than HR rats developed morphine behavior sensitization. 2. Both HR and LR rats possessed the capability to develop conditioned behavioral sensitization toward morphine. 3. LR rats responded more strongly than HR rats to drug treatment.

Key words: morphine, behavioral sensitization, conditioned sensitization, individual differences