

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*

潘玉芹 王东林 林文娟

(中国科学院心理研究所脑—行为研究中心, 北京 100101)

摘要 “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,为了探讨脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的免疫激活与抑郁性行为产生之间的关系,本研究采用 50 只 SD 大鼠随机分为五组 LPS400, LPS200, LPS50, LPS10, LPS0, 分别于实验期第 0 天和第 3 天注入 LPS400 μ g/kg, 200 μ g/kg, 50 μ g/kg, 10 μ g/kg 和生理盐水。以糖水偏爱, 旷场行为和高架十字迷宫评定大鼠 LPS 注射后 2h, 24h, 48h 的行为变化。结果显示一次 LPS 注射后 2h, LPS50, LPS200, LPS400 组动物与生理盐水组动物相比较, 其糖水偏爱分数 ($p < 0.01$), 旷场中的水平活动距离 ($p < 0.01$) 和直立行为 ($p < 0.01$) 以及高架十字迷宫中的闭合臂进入次数 ($p < 0.01$) 和开放臂进入次数显著下降 ($p < 0.01$); 重复注射后 2h LPS 注射组动物的闭合臂进入次数显著降低 ($p < 0.01$); 但 LPS10 组与生理盐水组动物在行为上没有差异, 50 μ g/kg, 200 μ g/kg 和 400 μ g/kg 剂量的各组之间没有差异。LPS 注射后 24h 和 48h 以及重复注射后大鼠的行为没有发现显著变化。提示 LPS 诱导的免疫激活对抑郁行为产生有一定的作用。免疫激活的细胞因子能够导致动物出现明显的抑郁性行为, 但是这种行为缺乏长时程效应, 因此 LPS 诱导的抑郁障碍的动物模型应用是非常有限的。免疫激活的前炎性细胞因子可能是导致抑郁障碍产生的其中一个原因而不是唯一原因。

关键词 脂多糖, 抑郁样行为, 快感缺乏, 自主活动。

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, 而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。以往对于抑郁障碍机制的研究多集中在 HPA 轴和脑内神经递质系统的变化以及脑内神经突触可塑性和蛋白的研究, 但是这些研究不能解释所有抑郁障碍患者的症状机制。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。细胞因子是由淋巴细胞和巨噬细胞等免疫细胞分泌的调节免疫应答的信号分子, 但目前研究发现它除了调节免疫系统的应答之外, 还在中枢神经系统表达, 作为一种神经调质, 调节神经生化, 神经内分泌和行为的改变。1999 年 Smith 等提出了“抑郁障碍的细胞因子假说”, 认为巨噬细胞分泌的前炎性细胞因子在抑郁障碍的产生中具有重要作用^[1]。临床中观察到很多应用细

胞因子免疫治疗的患者表现出一系列抑郁样症状, 应用细胞因子治疗的癌症和肝炎患者抑郁障碍的发病率较非细胞因子治疗患者高 35% ~ 40%^[2]。抗抑郁药能够阻断这些症状^[3]。感染导致的免疫激活通过前炎性细胞因子, 如白细胞介素 - 1 (Interleukin - 1, L - 1), 白细胞介素 - 6 (Interleukin - 6, L - 6) 肿瘤坏死因子, (Tumor necrosis factor - , TNF) 等能够产生神经, 神经内分泌和行为效应, 导致与抑郁类似的行为和生理变化^[4]。动物研究也发现, 动物在被注入免疫系统激活剂脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 或细胞因子 L - 1 后出现一系列神经心理行为变化: 厌食, 嗜睡, 快感缺乏, 体重减轻, 活动下降, 甚至伴有认知功能缺乏, 被统称为“病态行为”^[5]。这些病态行为与抑郁症状的表现非常相似。但是有人提出质疑, 病态行为的产生可能是由于感染引起的生理功能障碍造成的身体不适, 并不是一种动机行为^[6]。抑郁情绪和焦虑情绪

收稿日期: 2006 - 11 - 23

*国家自然科学基金项目 (NSF30670707)。

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

1041

是抑郁障碍的主要表现,其中快感缺乏和自主活动下降是抑郁的核心症状和评价抑郁动物模型的敏感指标^[7]。此外,前炎性细胞因子引起的抑郁行为的时程效应也不甚清楚。

为弄清免疫激活与抑郁障碍的关系,检验免疫激活导致的“抑郁”模型,本研究采用糖精水测试、旷场行为测试和高架十字迷宫行为测试考察不同剂量 LPS 免疫激活对大鼠行为产生的剂量效应和时程效应。

2 材料和方法

2.1 实验动物

选用健康雄性 Sprague - Dawley 大鼠 50 只,体重 250g 左右,购自维通利华实验动物中心。所有实验大鼠均单笼喂养。在实验室中给予 7 天的适应期,适应期内每天接受 3min 抚摸。光暗周期为 12h/12h (其中光照时间 08:00 ~ 20:00 h),室温 (22.0 ± 0.5),除糖精水测验期,自由摄食和饮水。

2.2 实验程序和分组

经一周适应期后,将实验大鼠随机分为 LPS400, LPS200, LPS50, LPS10 和 LPS0 五组,每组各 10 只,测得大鼠的注射前行为。然后分别于实验期第 0 天和第 3 天 8:00 ~ 10:00,分别腹腔注射无菌生理盐水 (LPS0 组) 和不同剂量的 LPS (10, 50, 200, 400 μg/kg)。试验程序见图 1。

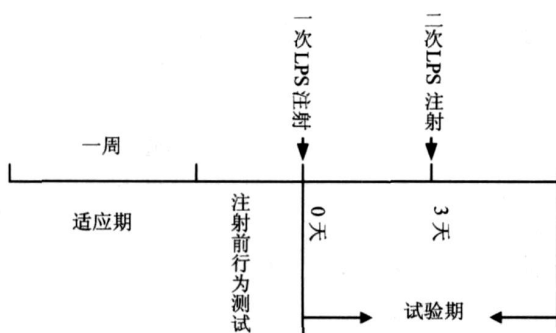


图 1 试验程序

2.3 试剂

脂多糖购自 Sigma 公司 (Escherichia coli 055: B5), 生理盐水购自北京双鹤药业有限公司。在注射前一晚,将 LPS 溶于无菌生理盐水中,浓度为 100 μg/ml,放置 4 °C 冰箱保存待用。

2.4 行为观察

适应期结束后和实验期每次注射 LPS 后 2h,

24h, 48h 分别依次进行糖精水偏爱、旷场行为和高架十字迷宫行为测试。

2.4.1 糖精水偏爱测试 在测试前对动物进行 20h 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% 糖精溶液) 共 30min,测试在此期间动物对自来水和糖精水的消耗量,并计算糖精溶液占摄入总液体的百分比,作为动物糖精水偏爱分数。

2.4.2 旷场行为测试 采用 open-field 旷场 (直径为 1.8m,高 50cm 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 5min。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 (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。

2.4.3 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,面对同一个开臂,用 MED - PC 系统记录 5min 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。

2.5 统计

实验中 2 只大鼠死亡,48 只大鼠进入数据统计,所有数据采用 SPSS10.0 for windows 统计软件处理。每个时间点的行为数据组间比较采用单因素方差分析 (one - way ANOVA) 分析和最小显著差法 (least significant difference, LSD) 检验。

3 结果

3.1 糖精水偏爱测试

注射 LPS 和生理盐水 2h 后, LPS50, LPS200, LPS400 组大鼠糖精水偏爱分数显著低于盐水对照组, $F(4, 43) = 5.910, p = 0.001$,而总的饮水量没有显著变化, $F(4, 43) = 1.299, p = 0.286$, 24h 后逐渐恢复到正常水平,重复注射对糖精水偏爱没有影响。而 LPS10 注射组与盐水对照组在糖精水偏爱测试中没有差异 (结果如图 2)。

3.2 旷场行为测试

注射 LPS 和生理盐水 2h 后, LPS50, LPS200, LPS400 组大鼠旷场中的水平活动和直立行为显著下降 (水平活动 $F(4, 43) = 13.754, p < 0.01$; 直立行为 $F(4, 43) = 21.717, p < 0.01$), 剂量之间没有差异。24h 后逐渐恢复,重复注射对大鼠的旷场行为没有影响。LPS10 注射组与盐水对照组在各个时间点的旷常行为没有差异。(图 3, 4)

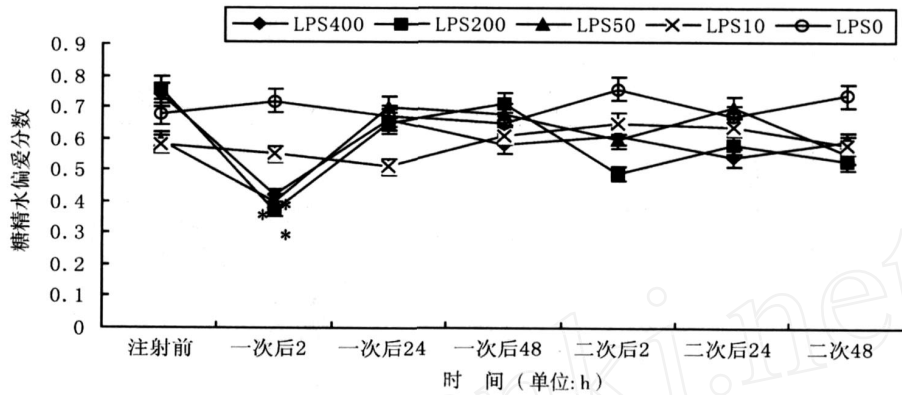


图2 不同剂量 LPS注射后大鼠糖水偏爱分数

注: LPS400:注射剂量为 400 μ g/kg的 LPS注射组; LPS200:注射剂量为 200 μ g/kg的 LPS注射组; LPS50:注射剂量为 50 μ g/kg的 LPS注射组; LPS10:注射剂量为 10 μ g/kg的 LPS注射组; LPS0:生理盐水注射组。与 LPS0组比较, * $p < 0.01$

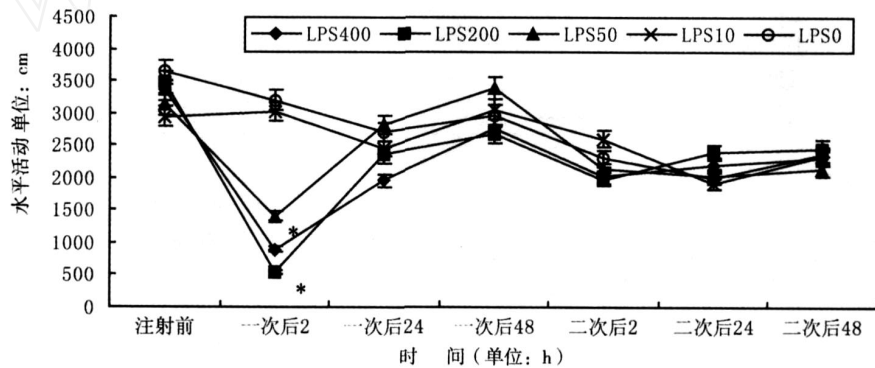


图3 不同剂量 LPS注射后的水平活动

注: LPS400:注射剂量为 400 μ g/kg的 LPS注射组; LPS200:注射剂量为 200 μ g/kg的 LPS注射组; LPS50:注射剂量为 50 μ g/kg的 LPS注射组; LPS10:注射剂量为 10 μ g/kg的 LPS注射组; LPS0:生理盐水注射组。与 LPS0组比较, * $p < 0.01$

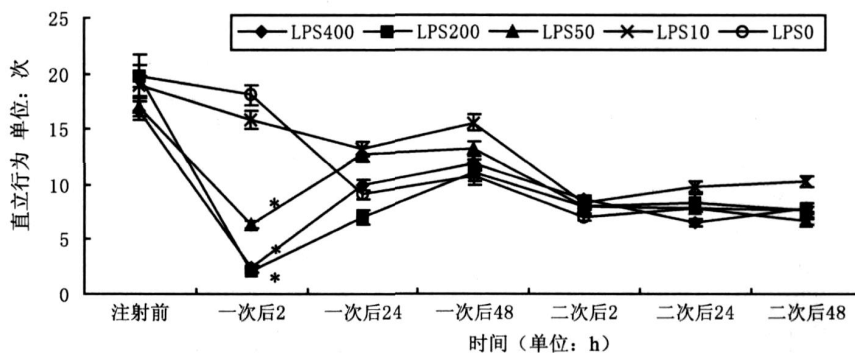


图4 不同剂量 LPS注射后的直立行为

注: LPS400:注射剂量为 400 μ g/kg的 LPS注射组; LPS200:注射剂量为 200 μ g/kg的 LPS注射组; LPS50:注射剂量为 50 μ g/kg的 LPS注射组; LPS10:注射剂量为 10 μ g/kg的 LPS注射组; LPS0:生理盐水注射组。与 LPS0组比较, * $p < 0.01$

3.3 高架十字迷宫行为测试

一次注射 LPS后 2h, LPS50, LPS200, LPS400注射组大鼠的闭合臂进入次数和开放臂进入次数与控制组比较显著降低 (闭合臂进入次数 $F(4, 43) = 8.572, p < 0.01$; 开放臂进入次数 $F(4, 43) =$

3.160, $p = 0.023$), 重复注射后 2h, LPS50, LPS200, LPS400注射组闭合臂进入次数与控制组比较显著降低 ($F(4, 43) = 8.346, p < 0.01$), 剂量之间没有差异 (结果见图 5, 6)。注射 24h后行为逐渐恢复。开放臂停留时间和闭合臂停留时间在各个测试时间点

没有差异 (结果见表 1, 2)。LPS10注射组与盐水对照组在各个时间点的高架十字迷宫行为测试没有

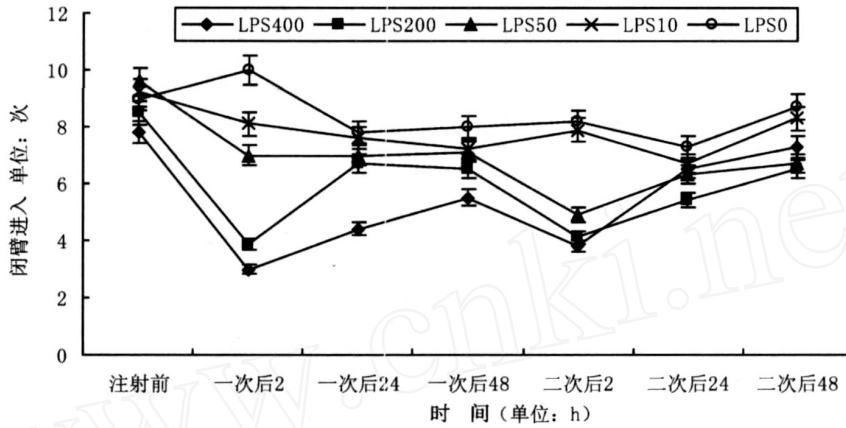


图 5 不同剂量 LPS注射后高架十字迷宫闭合臂进入次数

注:LPS400:注射剂量为 400 μ g/kg的 LPS注射组;LPS200:注射剂量为 200 μ g/kg的 LPS注射组;LPS50:注射剂量为 50 μ g/kg的 LPS注射组;LPS10:注射剂量为 10 μ g/kg的 LPS注射组;LPS0:生理盐水注射组。与 LPS0组比较, * $p < 0. 01$

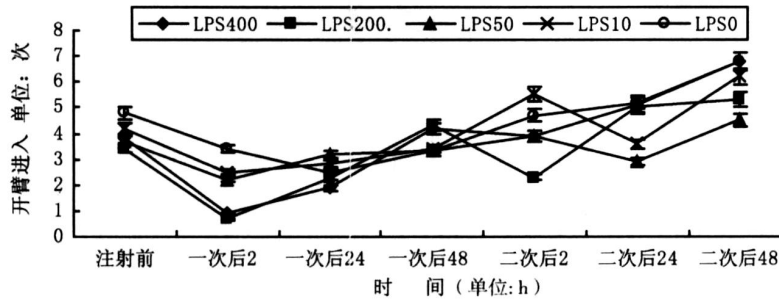


图 6 LPS注射后高架十字迷宫测试开放臂进入次数

注:LPS400:注射剂量为 400 μ g/kg的 LPS注射组;LPS200:注射剂量为 200 μ g/kg的 LPS注射组;LPS50:注射剂量为 50 μ g/kg的 LPS注射组;LPS10:注射剂量为 10 μ g/kg的 LPS注射组;LPS0:生理盐水注射组。与 LPS0组比较, * $p < 0. 01$

表 1 LPS注射后高架十字迷宫测试的闭合臂停留时间 ($M \pm SD$)单位: s

时间/组别	LPS400 (n = 10)	LPS200 (n = 9)	LPS50 (n = 10)	LPS10 (n = 9)	LPS0 (n = 10)	p值
注射前	24.74 \pm 8.71	25.39 \pm 5.79	20.01 \pm 4.20	28.35 \pm 6.25	28.31 \pm 1.10	0.763
一次后 2h	31.37 \pm 17.00	30.92 \pm 9.53	33.49 \pm 8.50	35.86 \pm 11.99	35.41 \pm 3.38	0.873
一次后 24h	28.50 \pm 18.84	31.22 \pm 9.04	33.49 \pm 8.50	33.66 \pm 10.14	35.41 \pm 3.38	0.927
一次后 48h	32.12 \pm 9.27	32.52 \pm 11.36	36.28 \pm 9.12	32.84 \pm 9.79	30.97 \pm 9.19	0.795
二次后 2h	27.84 \pm 14.35	32.47 \pm 16.54	31.44 \pm 5.31	33.17 \pm 8.70	29.56 \pm 8.94	0.634
二次后 24h	26.41 \pm 9.35	19.64 \pm 10.83	29.79 \pm 12.98	25.01 \pm 9.68	27.10 \pm 10.34	0.349
二次后 48h	23.80 \pm 9.56	23.23 \pm 5.54	27.05 \pm 11.68	27.30 \pm 7.22	21.80 \pm 5.32	0.538

表 2 LPS注射后高架十字迷宫测试的开放臂停留时间 ($M \pm SD$)单位: s

时间/组别	LPS400 (n = 10)	LPS200 (n = 9)	LPS50 (n = 10)	LPS10 (n = 9)	LPS0 (n = 10)	p值
注射前	20.54 \pm 7.89	21.26 \pm 5.36	20.01 \pm 4.71	19.87 \pm 7.17	21.21 \pm 9.13	0.974
一次后 2h	14.025 \pm 11.99	14.51 \pm 9.31	16.61 \pm 9.81	12.07 \pm 7.25	13.98 \pm 7.88	0.908
一次后 24h	14.44 \pm 11.80	13.80 \pm 9.06	16.61 \pm 9.89	17.13 \pm 8.17	14.26 \pm 10.35	0.939
一次后 48h	16.95 \pm 7.61	16.27 \pm 8.97	17.11 \pm 8.34	18.48 \pm 8.27	15.18 \pm 6.97	0.929
二次后 2h	17.17 \pm 10.80	16.30 \pm 14.03	16.87 \pm 11.62	17.99 \pm 5.68	19.35 \pm 7.06	0.824
二次后 24h	25.34 \pm 9.28	27.39 \pm 12.90	16.72 \pm 11.31	24.10 \pm 10.35	20.58 \pm 11.47	0.251
二次后 48h	25.55 \pm 9.62	25.39 \pm 7.94	22.34 \pm 10.25	23.90 \pm 7.59	27.43 \pm 4.40	0.711

4 讨论

本研究发现 50 ~ 400 μ g/kg LPS 注射后 2h,大鼠的糖精水偏爱分数显著下降,旷场中的水平活动和直立行为也显著下降,而 10 μ g/kg LPS 并不能导致行为的变化,说明行为的产生来自于 LPS 导致的免疫启动。以往的研究发现,不同剂量的 LPS 所导致的疼痛和体温等生理反应呈剂量依赖性增加^[8,9],并且人类研究也发现,被试的生理性反应如心率,皮电和睡眠反应等也伴随着 LPS 注射剂量的增加而呈现剂量依赖性^[10],而本研究显示在 50 ~ 400 μ g/kg 的 LPS 注射剂量范围内,大鼠的行为的产生并不具有剂量的依赖性,因此免疫激活所导致的行为变化可能不是来自于 LPS 导致的生理性不适而是来自于动物的动机行为。这些行为的产生可能是通过下丘脑等动机中枢调节的,因为在下丘脑发现了前炎性细胞因子及其受体的分布,因此有人也将这些行为称之为“中枢动机行为”。^[11]这些行为的产生可能是由于外周免疫激活产生的前炎性细胞因子通过信号传导进入脑内,与中枢产生的细胞因子共同作用于下丘脑-垂体-肾上腺轴(hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA 轴)和 5-羟色胺系统,从而导致抑郁样行为。^[12]而 10 μ g/kg 的剂量没有有效的诱导大鼠出现抑郁样行为,这可能是低剂量的 LPS 所导致的免疫启动在诱导阈值以下,只能引起免疫系统在生理范围内波动变化,而不能诱导免疫失衡。已有的研究发现 10 μ g/kg 的 LPS 不能有效诱导细胞因子的产生和 HPA 轴激活^[13],因此低剂量的 LPS 不能有效地诱导大鼠的抑郁行为。

糖精水测验是抑郁模型中常用来测量动物快感缺乏的方法,显示动物不能感受快乐或寻求快乐的动机下降。以往的研究发现,慢性温和应激抑郁模型中动物表现出显著的糖精水偏爱下降;而 L-1 和 IFN- γ 也能够导致与慢性应激相似的蔗糖水消耗降低^[14]。大鼠对糖精水的偏爱受到本身对水的渴求和寻求糖精水带来的快乐情绪体验的动机的影响。本研究结果表明,LPS 诱导的免疫激活并不影响大鼠对水的生理性需求,但是导致大鼠寻求快乐的动机下降。这与 Yimiyia 的研究结果一致,并且 Yimiyia 的研究还发现慢性而非急性注射抗抑郁药能够使大鼠重新恢复对糖精水的偏爱^[15]。说明免疫激活导致的大鼠糖精水偏爱分数下降可能是快感缺乏的抑郁行为表现。

自主活动下降和探索行为下降常被认为是一种

心理运动停滞,显示了大鼠积极适应环境的主动性和对环境危险的警惕性下降,导致生存危险。本研究发现大鼠在 LPS 注射后 2h,旷场行为中的水平活动和直立行为下降。有人认为大鼠的旷场活动下降是大鼠为了自体从疾病中恢复,采取的一种保存机体能量的积极适应的动机行为,有利于自身生存,与抑郁行为是不一样的^[10]。但是 LPS 诱导的免疫激活所导致的大鼠活动行为的退缩在保存自身体力和能量的同时,也使它丧失了对环境的主控性和对危险的应付能力,在自然界中处于一种弱势状况,如不能获取食物和容易被捕食等,这与抑郁病人的退缩行为在逃避生活和生存的压力同时导致在社会竞争中丢掉工作等不利个人生存和发展的结果是类似的。我们很难测量动物的抑郁心境,但是从结果而言,LPS 诱导的免疫激活导致的大鼠活动下降与抑郁病人的心理活动停滞是相似的。同时有研究还发现,慢性注射三环类抗抑郁药能够削弱和缓解 LPS 注射后大鼠旷场行为的抑制^[3]。说明免疫激活诱导的大鼠自主活动下降具有抗抑郁药敏感性。

在高架十字迷宫测验中,一次 LPS 注射后 2h 大鼠的自主活动和对环境的探索下降,LPS 重复注射有导致大鼠焦虑情绪下降的趋势。而以往的研究发现早期的免疫启动对成年大鼠的高架十字迷宫行为没有影响^[16],但是胎儿期母体受到 LPS 刺激的大鼠成年后在高架十字迷宫测试中呈现出显著的焦虑情绪^[17]。提示抑郁情绪和焦虑情绪在形成机制上既有不同也有重合。

值得一提的是,LPS 是一种细胞因子合成和释放的潜在刺激物,能够在注入后 2 ~ 6h 内诱导免疫功能激活,导致外周和中枢多种细胞因子的合成和释放如:L-1, L-6 和 TNF 等,并在注射后 24h 细胞因子水平恢复^[18]。如果细胞因子是导致抑郁性行为产生的原因,那么 LPS 诱导的行为效应时程变化应该与细胞因子水平的时程变化一致。本研究发现大鼠在一次 LPS 注射后 2h 出现明显的抑郁性行为,但是注射后 24h 和 48h 其行为与控制组没有差异,显示 LPS 诱导的免疫激活的前炎性细胞因子的时程与 LPS 诱导的的大鼠行为时程变化一致。说明 LPS 诱导的免疫激活的前炎性细胞因子参与了抑郁性行为的产生,但是行为的产生只在细胞因子升高的短暂时间内出现,缺乏长时程效应。并且试验期第 3 天重复注射 LPS 后,LPS 注射组的行为与控制组之间也没有差异。说明 LPS 导致的免疫激活虽然能够诱导抑郁性行为,但是这些行为不具

有长时程效应。重复注射 LPS 所诱导的大鼠的行为效应减弱,可能反映了 LPS 的耐受特性。这种耐受的产生可能与免疫激活的途径和再次注射的剂量及间隔时间有关^[19]。许多研究报道长期应激是导致抑郁症的重要原因,但是重复暴露于同一应激源(同质应激)经常导致 HPA 轴和脑干儿茶酚胺能神经通路习惯化,造成耐受。相反的,暴露于不同的应激源(异质应激)往往导致 HPA 轴和脑干儿茶酚胺能神经通路敏感化,更容易导致抑郁障碍^[20]。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。先前的电击应激导致随后 LPS 诱导的细胞因子产生的敏感化^[21];如一次鼠尾电击之后 1~4 天内,利用低于启动剂量的 LPS 能够通过脑内的 L-1 导致小鼠的中枢和外周细胞因子的升高和 HPA 轴激活^[13];隔日腹腔注射 LPS 导致慢性温和应激诱导的抑郁行为加重^[22]。对于应激和免疫激活在抑郁症中的交叉敏感化作用有待验证。

综上所述,本实验发现 LPS 所致的免疫激活能导致抑郁性行为,但缺乏长时程效应,并有一定的免疫耐受性,故作为抑郁障碍的动物模型而言,单纯 LPS 诱导的模型在应用上有相当的局限性。就其免疫激活的细胞因子在抑郁症中的作用而言,细胞因子可能是抑郁性障碍的原因之一而不是唯一的原因。免疫激活的前炎性细胞因子可能在抑郁症中具有启动或加强作用。许多研究报道抑郁症与长期应激有关,但并非处于长期慢性应激者都会患抑郁症。抑郁症是多因素相互作用的结果。免疫激活诱导的细胞因子可能是其中的重要的致敏因素。免疫激活因子是否加强应激导致的抑郁行为有待进一步的研究。

参 考 文 献

- Adrian J D, Artur H S, Renaud B. Cytokines as mediators of depression: what can we learn from animal studies? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 2005, 29: 891~909
- Menzies H, Chochinov H M, Breitbart W, et al. Cytokines, cancer and depression: connecting the dots. *Journal of Support Oncology*, 2005, 3(1): 55~57.
- Capuron L, Hanser P. Treatment of cytokine - induction depression. *Brain Behavior and Immune*, 2002, 16(5): 575~580
- Olga J G, Marieke C W, Maes M, et al. Cytokines and major depression. *Progress in Neuro - Psychopharmacology & Biological psychiatry*, 2005, 29: 201~217
- Kent S, et al. Sickness behaviors as a new target for drug development. *Trends Pharmacology Science*, 1992, 13: 24~28
- Larson S J, Romanoff R R, Dunn A J, et al. Effects of interleukin - 1 on food maintained behavior in the mouse. *Brain Behavior - Immunity*, 2002, 16(4): 398~410
- Qi Xiaoli, Lin Wenjuan. Methods and strategies of anxiety and depression animal model (in Chinese). *Advances in Psychological Science*, 2005, 13(3): 327~332
(齐晓丽,林文娟. 焦虑和抑郁动物模型的研究方法和策略. *心理科学进展*, 2005, 13(3): 327~332)
- Zachary M W, Stephanie L. Bowers, et al. Maternal aggression persists following lipopolysaccharide - induced activation of the immune system. *Physiology & Behavior*, 2006(87): 694~699
- Alla Y R, Alexandre A S, Jared R R, et al. The more regulatory responses to lipopolysaccharide in the mouse: dependence on the dose and ambient temperature. *Physiology and Pharmacology of Temperature Regulation*, 2005, 289: 1244~1252
- Janet M, Carsten K, Dirk M H, et al. Dose - dependent effects of endotoxin on human sleep. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol*, 2000, 278: 947~955
- Larson S J, Dunn A J. Behavioral effects of cytokine. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2001, 15: 371~387
- Pan Yuqin, Lin Wenjuan. Cytokine and depression. *Advances in Psychological Science*, 2006, 14(6): 901~906
(潘玉芹,林文娟. 细胞因子和抑郁症. *心理科学进展*, 2006, 14(6): 901~906)
- Johnson J D, O'Connor KA, Watkins L R, et al. The role of L-1 in stress - induced sensitization of proinflammatory cytokine and corticosterone responses. *Neuroscience*, 2004, 127: 569~577
- Garza R D. Endotoxin - or pro - inflammatory cytokine - induced sickness behavior as an animal model of depression: focus on anhedonia. *Neuroscience and Behavioral Reviews*, 2005, 29: 761~770
- Yim iya R. Endotoxin produces a depressive - like episode in rats. *Brain Research*, 1996, 711: 163~174
- Spencer S J, Heida J G, Pittman H Q, et al. Early life immune challenge - effects on behavioral indices of adult rat fear and anxiety. *Behavior Brain Research*, 2005, 164: 231~238
- Hava G, Vered L, Yeal M, et al. Alterations in behavior in adult offspring mice following maternal inflammation during pregnancy. *Development Psychobiology*, 2006, 48(2): 162~168
- Deak T, Bellamy C, Bordner K A. Prolonged increases in core body temperature and interleukin - 1 following acute administration of lipopolysaccharide: Implications for the stress response. *Physiology & Behavior*, 2005, 85: 296~307
- Song C, Hoeobin D C, Leonard B E, et al. The comparison of changes in behavior, neurochemistry, endocrine, and immune functions after different routes, doses and durations of administrations of L-1beta in rats. *Pharmacopsychiatry*, 2006, 39(3): 88~99
- Lachuer J, Delton I, Buda M, et al. The habituation of brainstem catecholaminergic groups to chronic daily restraint stress is stress specific like that of the hypothalamo pituitary adrenal axis. *Brain Research*, 1994, 638: 196~202
- Johnson J D, O'Connor KA, Deak T, et al. Prior stressor

- exposure sensitizes LPS - induced cytokine production Brain, Behavior, and Immunity, 2002, 16: 461 ~ 476
- 22 Huang Qingjun, Liu Huimin, Gan Lu et al Aspirin alleviates behavioral depression induced by chronic stress (in Chinese).

Chinese Journal of Psychiatry, 2004, 37(4): 236 ~ 240
(黄庆军,刘慧敏,甘露等. 脂多糖与阿司匹林对应急所致大鼠行为性抑郁的对照研究. 中华精神科杂志, 2004, 37(4): 236 ~ 240)

Animal Research on Immunity Activation - Induced Depressive - Like Behavior : Doses and Time Effects

Pan Yuqin, Wang Donglin, Lin Wenjuan

(Brain - Behavior Research Center, Institute of Psychology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract

The "cytokine theory of depression" indicated that cytokines induced by immunity activity are not only immunity mediators but also play an important role in the mechanism of depressive - like behaviors. The administration of lipopolysaccharide (LPS), which is a product of the cell wall of Gram - negative bacteria, is known to activate immune functions and induce the release of several cytokines both in the periphery, and the brain such as frontal cortex, hippocampus, and hypothalamus that are considered to be the essential brain regions of depression. Many studies found that the administration of LPS could induce depressive - like behavior, such as a decrease in the preference of sweet milk, low locomotion, and anorexia. However, these researches only pay attention to short - term behavior effects; the effects of LPS administration on long - term behavior changes have not been clearly reported. To further understand the role of immunity activation - induced cytokines in depression, the purpose of the present study was to investigate the effects of repeated administration of LPS in different doses on behavior and the long - term behavior effects in rats.

Fifty rats were randomly divided into 4 LPS groups (LPS 400, LPS 200, LPS 50, and LPS 10) and 1 saline control group (LPS 0); each group comprised ten rats. According to the groups, the rats were injected intraperitoneally with LPS 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and saline, respectively; they were injected again after 3 days. Two hours, 24 hours, and 48 hours after every injection, the rats were subjected to a saccharin preference test, an open - field test, and an elevated plus - maze test.

The results indicated that 2 hours after the first LPS injection, the percent of saccharin preference, locomotion and upright activity in the open - field test, and open arms and closed arms entries in the elevated plus - maze test were significantly lower in LPS 50, LPS 200, and LPS 400 than in the saline control group (percent of saccharin preference: $p < 0.01$; locomotion: $p < 0.01$; upright activity: $p < 0.01$; open arms entries: $p < 0.01$; and closed arms entries: $p < 0.01$). It was also found that the LPS - treated rats had fewer open arms entries than the saline controls 2 hours after the repeated LPS injection ($p < 0.01$). However, there was no significant difference between the LPS - treated groups and the saline control group with respect to behavior changes 24 hours and 48 hours after the first LPS injection and after the repeated LPS injection. In addition, there were no differences among LPS 400, LPS 200, and LPS 50 at any given point of time.

Our results demonstrate that LPS - induced immunity activation can result in evident depressive - like behavior in animals. However, no significant long - term effect in behavior was found. Thus, the present results suggest that LPS - induced proinflammation cytokines may be one of the conditions, but not the only condition or sufficient condition that causes the long - term depression. Using the animal model of LPS - induced depression has certain limitations.

Key words lipopolysaccharide, depressive - like behavior, anhedonia, locomotion