

昆明小鼠物体识别模型的建立及其在检测 化学药物对记忆损伤中的应用

车轶*, 崔勇华, 朱玉芳, 薛智谋

(苏州大学 生命科学学院, 苏州 215006)

摘要: 本研究的主要目的是建立昆明小鼠物体识别模型并评价该模型在安全药理学研究中的潜在应用价值。研究了昆明小鼠物体识别记忆随时间而减弱的特性, 在训练结束后 4 h 或 1 h, 检测昆明小鼠的物体识别记忆, 并评价了东莨菪碱对昆明小鼠物体识别记忆的影响。结果表明: 1 h 间隔组昆明小鼠熟悉期探究物体的时间差和测试期探究物体的时间差存在显著差异($P<0.05$), 昆明小鼠在训练结束后 1 h 记忆保持良好, 可以进行物体识别; 东莨菪碱组昆明小鼠熟悉期探究物体的时间差和测试期探究物体的时间差比较($P>0.05$), 没有显著性差异。因此, 东莨菪碱损伤了昆明小鼠的物体识别记忆。用昆明小鼠建立的物体识别模型具有简单、快速、可靠等特点, 在安全药理学研究中可用于检测化学药物对记忆的损伤。

关键词: 昆明小鼠; 物体识别; 东莨菪碱; 安全药理学

中图分类号: R964 文献标识码: A 文章编号: 0254-5853 (2007) 05-0497-04

Founding of Object Recognition Learning Paradigm in KM Mice and Its Application in Detecting Memory Impaired Properties of Compounds

CHE Yi*, CUI Yong-hua, ZHU Yu-fang, XUE Zhi-mou

(School of Life Science, Suzhou University, Suzhou 215006, China)

Abstract: The aim of the present study is to found the object recognition learning paradigm in KM mice and evaluate its potential application in safety pharmacology. The time dependent decay of object recognition memory was characterized in KM mice. Memory retention was tested 4h or 1h after the training and the impairment of scopolamine on the object recognition memory was assessed. The results showed a great difference between the time of exploring the two objects in the choice phase and the time of spending for novel object and for familiar object in one hour intertrial interval group, $P<0.05$. No difference appeared between the time of exploring the two objects in the choice phase and the time of spending for novel object and for familiar object in scopolamine group, $P>0.05$. The object recognition task can easily be performed in one hour intertrial interval group and scopolamine impairs the object recognition memory in KM mice. The object recognition task in KM mice, which is simple, rapid and reliable, should be applied in safety pharmacology to detect memory impaired properties of new compounds.

Key words: KM mice; Object recognition learning; Scopolamine; Safety pharmacology

安全药理学主要是研究药物剂量在治疗范围内或治疗范围以上时, 潜在的不期望出现的对生理功能的不良影响, 即观察药物对中枢神经系统、心血管系统和呼吸系统的影响。在安全药理学研究中首先需进行核心组实验, 根据需要还需进一步进行追加的安全药理学实验及补充的安全药理学实验。在进行追加的安全药理学实验时, 需对中枢神经系

统的多种生理功能进行检测, 其中学习记忆功能为一很重要的检测指标。

安全药理学实验所要回答的问题既是化学药物是否损伤了记忆, 诱发了遗忘。

Ennaceur & Delacour (1988)根据啮齿类对新环境的探究特性而率先设计了物体识别模型, 该模型依据动物对环境中原来见过的熟悉物体和没有见

收稿日期: 2007-04-17; 接受日期: 2007-09-28

*通讯作者 (Corresponding author), E-mail: cheyiwenshan@sina.com.cn

过的新物体的探究时间的长短来评价被测试动物的记忆功能。倘若被测试动物没有遗忘环境中见过的熟悉物体,便会用更多的时间探究没有见过的新物体;若遗忘了见过的熟悉物体,则动物对环境中没有见过的新物体和见过的熟悉物体的探究时间应基本相同(Ennaceur & Delacour, 1988)。物体识别模型所检测的是一种情景记忆,不同种类的啮齿动物在该模型中的表现则不尽相同,有些种类甚至无法建立物体识别模型(Sik et al, 2003)。昆明小鼠是我国特有的封闭群小鼠,为我国应用最多的实验小鼠,常被用于安全药理学实验,但目前尚不清楚昆明小鼠是否能建立起物体识别模型,同时该识别模型是否也能应用于安全药理学研究。为此,本文对此项研究结果进行了总结,有望能对今后的药理学研究提供动物物体识别模型的建立方法及依据。

1 材料方法

1.1 实验动物

实验用昆明小鼠共计 77 只(40 雄, 37 雌),苏州大学实验动物中心提供,体重 18—22g。其中 41 只用于研究物体识别模型的建立,将其分成 2 组,一组为 1h 时间间隔组,共计 15 只(8 雄, 7 雌);另一组为 4h 时间间隔组,共计 26 只(14 雄, 12 雌)。另外 36 只用于研究小鼠物体识别模型在安全药理学中的应用,将其分成 3 组,一组为东莨菪碱组,一组为对照组,另一组为盐水组,每组 12 只,雌雄各半。

1.2 物体识别

1.2.1 行为箱 用于物体识别研究的行为箱为白色塑料箱 46.5 cm × 21 cm × 28.5 cm。用于小鼠物体识别的物体有两种,一种为圆柱体,其底面直径 1 cm、高 2.7 cm,将该圆柱体固定于一圆锥台上,圆锥台底面直径 2 cm、高 1.3 cm、上表面直径 1.2 cm;另一种为球体,球体直径 1.3 cm,同样将其固定于圆锥台上(图 2)。被识别的物体需有一定的重量和硬度,以防止被小鼠推动和咬坏,其所放置位置见图 1,距离两面箱壁 5.7 cm。在行为箱正上方置一摄像机,用于记录小鼠在行为箱内的活动视频,该视频信号通过线缆传至计算机,并由计算机中采集卡采集保存,实验结束后,对此结果进行分析。

1.3 物体识别

物体识别模型的建立包括适应期、熟悉期和测

试期三个阶段(Sik et al, 2003)。

1.3.1 适应期 适应期共两天,每天将小鼠放入行为箱,如图 1 所示,每次放入的初始位置固定,让小鼠自由活动 5 min,以适应环境。这一阶段行为箱内不放任何被识别物体。

1.3.2 熟悉期 第 3 天进入熟悉期和测试期,如图 2 所示。在熟悉期,首先在行为箱内放入两个相同的被识别物体,而后再将小鼠放入行为箱,让其在里面活动 5 min。被识别物体的摆放位置和小鼠放入行为箱的初始位置如图 1 所示。在此阶段,记录小鼠对两个被识别物体的探究时间。小鼠鼻子距被识别物体的距离不超过 2 cm 或用鼻子接触到被识别物体为探究行为,趴在被识别物体上或只是在被识别物体附近走动不认为是探究行为。熟悉期结束后,将行为箱和用过的被识别物体用自来水冲洗,然后用电吹风吹干以去除小鼠在上面遗留的气味。

1.3.3 测试期 熟悉期结束后,间隔 1h 及 4h 进入测试期(图 2)。首先在行为箱内固定位置放置两个不同的被识别物体,然后将小鼠从图 1 所示的初始位置放入行为箱,让其自由活动 5 min。并记录小鼠对两个不同物体的探究时间。如图 2 所示,熟悉期和测试期按随机数字表组合两种被探究物体及摆放位置。

1.4 给药

为研究东莨菪碱对昆明小鼠物体识别学习的影响,在熟悉期训练开始前 30 min 腹腔注射东莨菪碱(1 mg/kg),盐水组注射相同剂量的生理盐水,对照组不做任何处理,熟悉期和测试期的时间间隔为 1 h(Dodart et al, 1997)。由于在熟悉期和测试期的时间间隔为 4 h 时,小鼠产生明显遗忘(图 4),因此

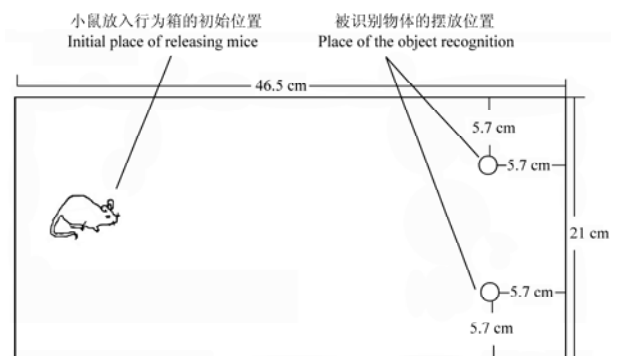


图 1 物体识别行为箱示意图

Fig.1 Schematic diagram of the apparatus of the object recognition task

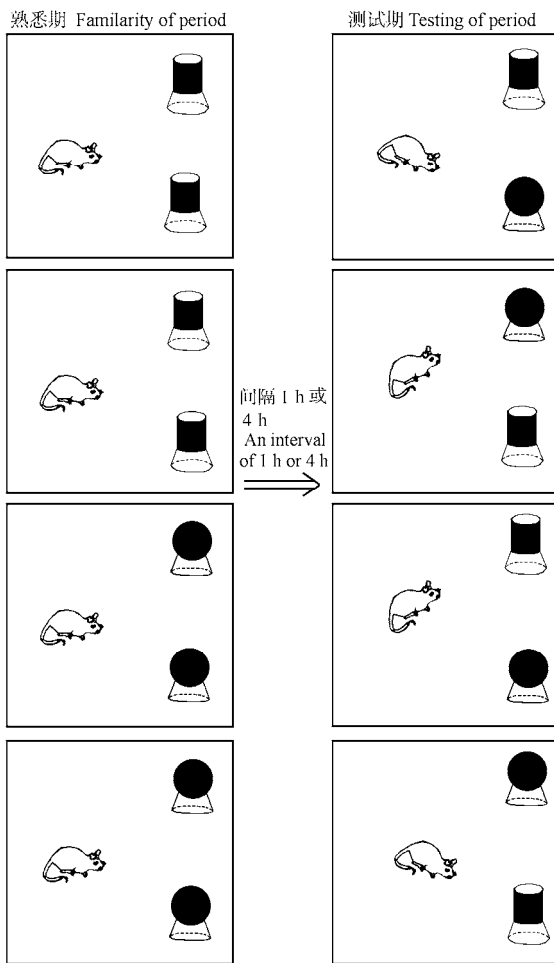


图 2 物体识别过程示意图

Fig. 2 Schematic diagram of the testing procedure in the object recognition task

在研究东莨菪碱对昆明小鼠物体识别学习的影响时不需设置 4h 时间间隔组。

1.5 数据分析

熟悉期小鼠对行为箱内两个相同物体的探究时间分别记为 a_1 和 a_2 , 测试期小鼠对熟悉期探究过的旧物体的探究时间记录为 a , 对没有探究过的新物体的探究时间记录为 b 。熟悉期小鼠对两个物体的总探究时间记为 e_1 , $e_1 = a_1 + a_2$; 测试期小鼠对两个物体的总探究时间记为 e_2 , $e_2 = a + b$; 在测试期小鼠对新物体和旧物体的探究时间差记为 d , $d = b - a$; 熟悉期小鼠对两个相同物体的探究时间差记为 f , $f = a_2 - a_1$, 用 SPSS1.1 对结果进行单因素方差分析(Ennaceur et al, 1997)。

2 结果与分析

对 1 小时间隔组及对 4h 间隔组小鼠熟悉期和

测试期探究物体的总时间 e_1 和 e_2 值进行单因素方差分析。由分析结果可知: 经 1h 间隔或 4h 间隔后, 其 e_1 和 e_2 均不存在显著性差异。因此, 小鼠在熟悉期和测试期对物体的探究总时间没有明显改变(图 3)。

对 1h 间隔组和 4h 间隔组小鼠熟悉期探究物体的时间差 f 值和测试期探究物体的时间差 d 值进行单因素方差分析所得到的结果如图 4 所示。1h 间隔组, f 值和 d 值比较, $P = 0.024$ ($P < 0.05$), 测试期小鼠对新物体和旧物体的探究时间差与熟悉期小鼠对两个相同物体的探究时间差存在差异; 4h 间隔组, f 值和 d 值比较, $P = 0.356$ ($P > 0.05$), 测试期小鼠对新物体和旧物体的探究时间差与熟悉期小鼠对两个相同物体的探究时间差不存在显著差异。由分析结果可知: 经 1h 的时间间隔, 小鼠对熟悉期探究过的物体没有产生遗忘, 能够识别出新旧物体; 而经 4h 时间间隔, 小鼠对熟悉期探究过的物体产生了遗忘, 已不能识别出新旧物体。

在熟悉期训练开始前 30min 给小鼠腹腔注射东莨菪碱 (1mg/kg) 熟悉期和测试期的时间间隔 1h, 对东莨菪碱组、生理盐水组和对对照组的 f 值和 d 值进行单因素方差分析所得结果如图 5 所示。生理盐水组与对照组的 f 值与 d 值存在显著性差异 (生理盐水组 $P = 0.031$, 对照组 $P = 0.038$ ($P < 0.05$)), 而东莨菪碱组没有显著性差异, $P = 0.266$ ($P > 0.05$), 东莨菪碱对记忆的损伤明显。

3 讨论

Sik (2003) 等用 4 种小鼠建立物体识别模型, 观察不同小鼠在物体识别模型中的表现, 结果表明, 小鼠在物体识别模型中的表现与它们各自先天的心理特性有关, 恐惧感强、探究性差的小鼠在物体识别模型中的表现很差(Sik et al, 2003)。本文对昆明小鼠在物体识别模型中的记忆能力进行了测试, 所得结果显示, 熟悉期后间隔 1h, 昆明小鼠在测试期没有表现出遗忘特征, 能够识别出新旧物体; 而在熟悉期后间隔为 4h, 昆明小鼠在测试期不能识别出新旧物体, 表现出明显的遗忘特征。此结果表明, 昆明小鼠的心理特征适合建立物体识别模型, 在熟悉期后间隔 1h 进入测试期的条件下, 昆明小鼠能够建立理想的物体识别模型。东莨菪碱对记忆有明显的损伤作用(Drachman & Leavitt, 1974,

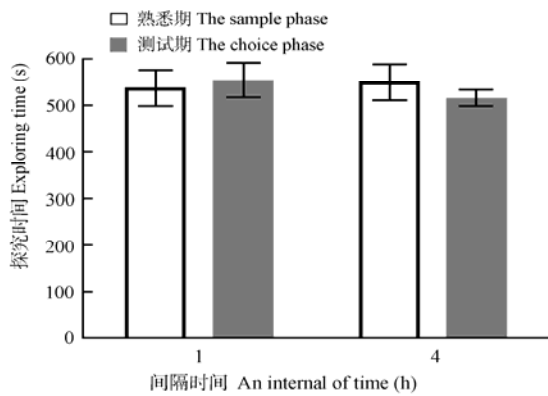


图 3 熟悉期和测试期小鼠探究物体总时间

Fig.3 The total time of exploring the two objects in the choice phase and the sample phase

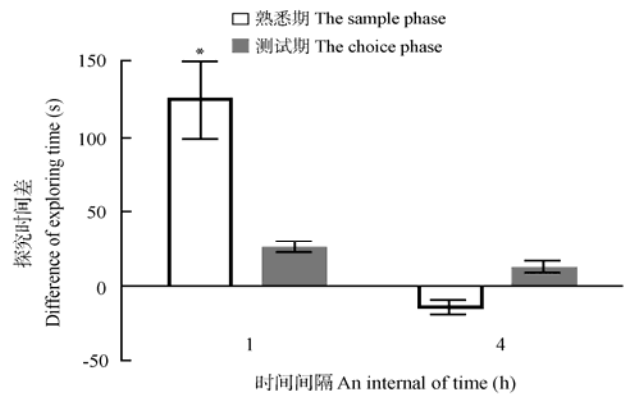


图 4 熟悉期和测试期小鼠探究物体时间差

Fig.4 The difference between the time of exploring objects during the sample phase and the choice phase

* $P < 0.05, f vs d.$

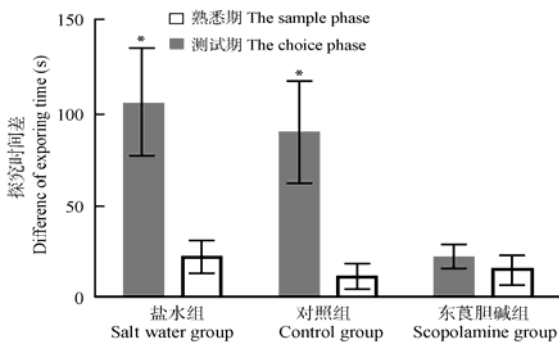


图 5 东莨菪碱对小鼠物体识别记忆的影响

Fig.5 Effects of scopolamine on memory performance of mice tested in object recognition task

* $P < 0.05, f vs d.$

2006)。我们在熟悉期训练开始前 30 min 给小鼠腹腔注射东莨菪碱 (1 mg/kg), 训练结束后 1h, 检测昆明小鼠的物体识别记忆, 结果显示: 东莨菪

参考文献:

Dodart JC, Mathis C, Ungerer A. 1997.Scopolamine-induced deficits in a two-trial object recognition task in mice [J]. *Neuroreport*, 8: 1173-1178.
 Drachman DA, Leavitt J. 1974.Human memory and the cholinergic system; a relationship to aging [J]. *Archives of Neurology*, 30: 113-121.
 Ennaceur A, Delacour J. 1988. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats [J]. *Behavioural Brain Research*, 31: 47-59.
 Ennaceur A, Neave N, Aggleton JP. 1997. Spontaneous object recognition and object location memory in rats: The effects of lesions in the

碱明显损伤了昆明小鼠的物体识别记忆。由此可见昆明小鼠的物体识别模型能够很好地检测出东莨菪碱对记忆的损伤作用。从而提示: 昆明小鼠不仅可以建立起物体识别模型, 且在安全药理学实验中, 昆明小鼠建立的物体识别模型可用于检测化学药物对记忆的损伤。

在昆明小鼠物体识别模型的研究中需注意以下几点: 1) 行为箱内光线要均匀, 避免有模型阴影; 2) 被识别物体重量要足够重, 确保小鼠不能推动, 要有足够硬度以避免小鼠啃咬; 3) 行为箱和被识别物体必须保持无味, 不让小鼠有嗅觉记忆, 因此, 在熟悉期和测试期后都要将行为箱和被识别物体用自来水反复冲洗并吹干; 4) 当小鼠在行为箱中活动时, 要绝对保持外界环境安静以免干扰小鼠的探究行为。

cingulate cortices, the medial prefrontal cortex, the cingulum bundle and the fornix [J]. *Experimental Brain Research*, 133: 509-519.
 Kamboj SK, Curran HV. 2006.Neutral and emotional episodic memory: global impairment after lorazepam or scopolamine[J]. *Psychopharmacology*, 188:482-488.
 Sik A, Van Nieuwehuyzen P, Prickaerts J, Blokland A. 2003. Performance of different mouse strains in an object recognition task [J]. *Behavioural Brain Research*, 147: 49-54.