

· 论 著 ·

不同氨基酸对精神分裂小鼠 BALB/C 干预作用研究

张程希, 吴 晶, 翟 寅

[摘要] **目的** 通过构建精神分裂小鼠 BALB/C 模型, 研究不同种类氨基酸对模型的干预作用, 初步探讨可能的精神分裂症生理学机制。**方法** 以氯丙嗪为对照, 采用磷酸可待因构造小鼠 BALB/C 模型, 用旷场实验、洞板实验观察 L-谷氨酸、酪氨酸、色氨酸、甘氨酸对精神分裂小鼠 BALB/C 模型的作用。**结果** L-谷氨酸高低剂量刻板行为时间分别为 (120.67 ± 18.23) s 和 (202.33 ± 48.34) s, 快速移动次数分别为 (3.33 ± 0.58) 次和 (4.33 ± 1.15) 次, 洞板实验小鼠探洞次数 (26.00 ± 2.65) 次和 (22.67 ± 1.53) 次; 酪氨酸高低剂量刻板行为时间分别为 (831.00 ± 41.62) s 和 (776.00 ± 9.17) s, 快速移动次数分别为 (49.00 ± 1.00) 次和 (21.33 ± 0.58) 次, 洞板实验小鼠探洞次数分别为 (4.83 ± 0.76) 次和 (7.57 ± 0.51) 次。**结论** 氨基酸对精神分裂小鼠 BALB/C 模型分别有促进和缓解的作用, 其中 L-谷氨酸对模型有明显缓解作用, 而酪氨酸对模型有明显促进作用。

[关键词] 小鼠 BALB/C 模型; 氨基酸; 精神分裂; 干预作用

[中图分类号] R749.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1672-271X(2011)05-0415-04

Interventional effects of different amino acids on schizophrenic BALB/C rats

ZHANG Cheng-xi, WU Jin, ZHAI Yin. College of Pharmacy, Wuhan University, Wuhan, Hubei 430071, China

[Abstract] **Objective** Study the interventional effects of different amino acids on schizophrenia through the schizophrenic BALB/C rats model. The possible psychophysiology mechanism is discussed. **Methods** The molded BALB/C rats were simulated with phosphoric acid codeine. Field experiment and the times of hole board tests are observed after the injection of L-glutamic acid, tyrosine, tryptophan, and glycine in molded BALB/C rats with the control medicine of chlorpromazine. **Results** Stereotyped behaviors time of high and low concentration of glutamate are (120.67 ± 18.23) s and (202.33 ± 48.34) s, fast-moving times are (3.33 ± 0.58) times and (4.33 ± 1.15) times, the hole board test are (26.00 ± 2.65) times and (22.67 ± 1.53) times; Stereotyped behaviors time of high and low concentration of tyrosine are (831.00 ± 41.62) s and (776.00 ± 9.17) s, fast-moving times are (49.00 ± 1.00) and (21.33 ± 0.58) times, the times of hole board test are (4.83 ± 0.76) times and (7.57 ± 0.51) times. **Conclusion** Amino acids have interventional effects on schizophrenia. Glutamate significantly alleviates the effect of schizophrenia, while tyrosine has a vital role in promoting schizophrenia.

[Key words] BALB/C rats; amino acids; schizophrenia; interventional effects

精神分裂症是一种以基本个性改变, 思维、情感和行为的分裂, 精神活动与环境不协调为主要特征的精神疾患, 是人类面临的最为严重的疾病之一, 其患病率是精神疾病中最高的一种^[1]。病程多呈持续进展, 导致社会适应能力的下降甚至精神衰退。精神分裂症不仅给患者本人造成终身的痛苦, 而且给家庭和社会造成长期沉重的经济负担^[2], 同时还严重威胁社会的安全与稳定。英国科学家发表的一项最新研究指出, 目前全球罹患精神疾病的人数不断上升, 这与人类过去半个世纪的饮食习惯改变、吃

进过多垃圾食物有关。英国均衡饮食推广机构与英国精神健康基金会发表的研究报告指出, 英国人过去 60 年间摄取的新鲜蔬果与鱼类都较过去少, 其中蔬菜消耗量比过去减少了 34%, 鱼的摄入量比 60 年前减少 2/3。相反, 人们食用过多饱和性脂肪及糖类, 是罹患忧郁症、精神分裂等精神疾病的重要因素, 而加工食品所含毒素与氧化剂也会对脑细胞造成损伤, 英国精神健康基金会执行官安德鲁·麦克洛奇认为, 对于一些精神病病例而言, 改变饮食习惯较药物治疗和心理治疗更为有效^[3]。

食品中含有人类所需的氨基酸及矿物质, 由精神分裂症的谷氨酸假说可知, 精神分裂症患者可能存在着谷氨酸和甘氨酸等氨基酸神经递质的

作者简介: 张程希(1990-), 女, 江苏南京人, 本科, 从事药学研究

作者单位: 430071 湖北武汉, 武汉大学药学院

不足。甘氨酸是一种主要存在于灰质中的神经递质,目前对其神经传递功能研究较少,大部分的甘氨酸抑制途径发生在脊髓和髓质中。谷氨酸可在神经元和神经胶质中进行代谢,作为一种兴奋性神经递质,谷氨酸在神经元中不断被消耗。色氨酸是一种基本氨基酸,且在人脑中无法合成,在机体中它可以利用草酰乙酸作为胺类基团受体进行转氨作用,也可以进行脱羧作用。酪氨酸在脑和肾上腺中的主要代谢途径是转化成儿茶酚胺。为此,我们通过建立小鼠磷酸可待因精神分裂模型,探索 L-谷氨酸、酪氨酸、色氨酸、甘氨酸,四种氨基酸对精神分裂症患者的作用,方法及结果如下。

1 材料与方法

1.1 实验材料 造模药:医用口服磷酸可待因片剂(15 mg/片,国药集团工业股份有限公司),对照组:医用口服盐酸氯丙嗪片(25 mg/片,太原市卫星制药有限公司),实验氨基酸:色氨酸(纯度 $\geq 99\%$)、甘氨酸(纯度 $\geq 99\%$)、酪氨酸(纯度 $\geq 99\%$)、L-谷氨酸(纯度 $\geq 98.5\%$)均来自 Sigma 公司。实验动物:BALB/C 小鼠 40 只[实验动物许可证号:SCXK(鄂)2008-0005],均为雄性,由武汉大学动物实验中心提供。实验材料:微量注射器(250 μl)、灌胃针、鼠笼、烧杯、量筒、自制洞板计数仪、自制旷场模型、1.5 ml EP 管。

1.2 实验方法

1.2.1 氨基酸种类选择 通过查阅文献^[4-8],从 20 种基本氨基酸中筛选出可能对精神分裂症患者有直接或间接作用的氨基酸:L-谷氨酸、酪氨酸、色氨酸、甘氨酸。

1.2.2 动物分组 将 40 只小鼠随机分为 10 组,每组 4 只,分别标记为空白组,阴性对照组,四种氨基酸的高低剂量组。其中每组小鼠标记为 1、2、3、4 号,前 3 号为实验小鼠,4 号小鼠为备用鼠,防止小鼠在实验过程中意外死亡造成数据缺失。

1.2.3 动物造模及氨基酸注射 试验中使用的造模药为磷酸可待因,预实验探索得出其造模浓度为 30 mg/ml,注射量为 5 $\mu\text{l/g}$,左侧腹腔注射。对照组为造模后灌胃注射氯丙嗪,浓度为 0.33 mg/ml,注射量 0.1 ml。空白组为造模后灌胃注射生理盐水。四种高低浓度氨基酸注射量分别为每次 0.1 ml/只,每只灌胃注射一次,注射后放入准备好的鼠笼中,10 min 后,造模及注射完成(造模用磷酸可待因及对照组氯丙嗪试验浓度及剂量均为实验者探索得出)。氨基酸的用量参照人体氨基酸的正常摄入

量计算^[5],分别为色氨酸 11.4 mg/kg、谷氨酸 40 mg/kg、酪氨酸 45.3 mg/kg、甘氨酸 5 mg/kg。根据实验用 BALB/C 小鼠的平均质量换算得出待测氨基酸的浓度。

1.2.4 旷场实验 通过灌胃给予正常小鼠系列剂量的实验氨基酸溶液。然后将小鼠放回饲养盒中,10 min 后将小鼠放置于尺寸 48 cm \times 24 cm \times 20 cm、顶部开口的长方形实验盒内,盒上覆盖无色透明玻璃;对小鼠在盒内的行为进行录像。观看并分析,做出整个检测期间在 2 h 内的刻板行为时间以及快速运动的次数,评定记录待筛选氨基酸对正常小鼠的行为产生的影响^[6]。

1.2.5 洞板实验 将小鼠分为对照组和实验组;造模后,分别给予小鼠不同的高低剂量氨基酸;将小鼠放置于洞板平台中央,即开始计时,读取该小鼠 3 min 内的探洞次数^[6]。

1.2.6 统计学处理 实验数据处理用 SPSS 11.5 统计软件包进行统计学分析。实验结果采用配对样本 *t* 检验,实验数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 造模结果 利用磷酸可待因造模后,小鼠在旷场中出现刻板性动作并伴有不时的快速移动;洞板实验中,小鼠天生好奇型的探洞行为明显减少,学习和记忆功能下降。造模结果符合精神分裂症的阴性症状,如情感淡漠和运动机能障碍。

2.2 旷场实验结果 见表 1,空白模型组刻板行为时间为(361.00 \pm 24.02) s,快速移动次数(8.75 \pm 2.31)次,氯丙嗪对照组刻板行为时间约为(161.33 \pm 16.17) s,快速移动次数(4.00 \pm 1.00)次,即对照组实验结果几乎是空白组的一半。由 L-谷氨酸高低剂量刻板行为时间和快速移动次数,均说明 L-谷氨酸高低剂量组灌胃给药后有效缓解 BALB/C 小鼠的紧张度,和对照组氯丙嗪有着相似的缓解精神分裂症状的作用,其中以 L-谷氨酸高剂量组效果更为显著。同理,酪氨酸高低剂量组刻板行为时间和快速移动次数较空白模型组大幅增加,即小鼠紧张度增加,说明酪氨酸对精神分裂症有促进作用,见表 2。

2.3 洞板实验结果 见表 1,空白模型组小鼠探洞次数为(7.67 \pm 0.58)次,对照组小鼠探洞次数为(22.33 \pm 2.52)次,对照组探洞实验结果几乎是空白组的 3 倍,说明氯丙嗪对缓解精神分裂有着较显著的作用。L-谷氨酸高低剂量洞板实验小鼠探洞次数分别为(22.67 \pm 1.53)次和(26.00 \pm 2.65)次,

表 1 高低剂量氨基酸对小鼠精神分裂刻板行为、快速移动次数、模型洞板实验的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	刻板行为(s)	快速移动(次)	洞板实验(次)
空白模型组	9	361.00 ± 24.02	8.75 ± 2.31	7.67 ± 0.58
氯丙嗪对照组(0.33 mg/ml)	9	161.33 ± 16.17 *	4.00 ± 1.00 *	22.33 ± 2.52 *
色氨酸低(0.15 g/L)	9	359.00 ± 22.07	6.00 ± 1.00	13.67 ± 1.15
色氨酸高(1.50 g/L)	9	371.00 ± 39.85	8.00 ± 0.00	18.00 ± 1.00
L-谷氨酸低(1.50 g/L)	9	202.33 ± 48.34 *	4.33 ± 1.15 *	22.67 ± 1.53 *
L-谷氨酸高(15.30 g/L)	9	120.67 ± 18.23 *	3.33 ± 0.58 *	26.00 ± 2.65 *
酪氨酸低(0.70 g/L)	9	776.00 ± 9.17 ▲	21.33 ± 0.58 ▲	7.57 ± 0.51 ▲
酪氨酸高(7.00 g/L)	9	831.00 ± 41.62 ▲	49.00 ± 1.00 ▲	4.83 ± 0.76 ▲
甘氨酸低(0.21 g/L)	9	264.00 ± 16.52	8.00 ± 1.00	15.33 ± 1.15
甘氨酸高(2.10 g/L)	9	822.33 ± 11.02	25.00 ± 1.00	6.00 ± 1.00

注:以上数据均已根据不同小鼠计数,求取加权平均数记录并计算。与空白模型组比较,* $P < 0.05$;与氯丙嗪对照组比较,▲ $P < 0.01$

表 2 高低剂量氨基酸对精神分裂小鼠干预作用百分比(%)

组别	刻板行为	快速移动	洞板实验
氯丙嗪对照组(0.33 mg/ml)	-55.31	-58.10	191.30
色氨酸低(0.15 g/L)	-0.55	-31.43	78.26
色氨酸高(1.50 g/L)	2.77	-9.00	134.78
L-谷氨酸低(1.50 g/L)	-43.95	-50.48	208.70
L-谷氨酸高(15.30 g/L)	-66.57	-61.90	266.52
酪氨酸低(0.70 g/L)	114.96	143.81	-1.30
酪氨酸高(7.00 g/L)	130.19	460.00	-36.96
甘氨酸低(0.21 g/L)	-26.87	-8.57	100.00
甘氨酸高(2.10 g/L)	127.79	185.71	-21.74

注:正数表示增加,负数表示减少

由表 1 可见,分别注射 L-谷氨酸高低剂量后小鼠探洞次数明显增加,说明学习性行为恢复。因此,L-谷氨酸高低剂量和对照组氯丙嗪有着相似缓解精神分裂症状的作用。同理,酪氨酸高低剂量组探洞次数减少,即小鼠情绪更加淡漠,学习型行为近乎丧失,说明酪氨酸对精神分裂症有促进作用,见表 2。

3 讨 论

近年来,精神分裂症的谷氨酸假说越来越受到精神医学界的关注,研究者特别意识到谷氨酸 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体系统在精神分裂症病理机制中的潜在作用。精神分裂症谷氨酸假说认为:精神分裂症患者存在脑内谷氨酸 NMDA 受体功能减退,这种状况可因使用 NMDA 受体拮抗剂而导致原本正常的人或动物大脑的神经功能产生功能减退的变化。方贻濡等^[7]认为,谷氨酸是影响认知功能的一个重要因素,谷氨酸受体(Glu-R)可以选择性地与递质受体结合,激活 N-甲基-D-门冬氨酸受体(NMDA-R),使钙通道开放,钙离子内流增加,调节着兴奋性突触的传递,参与学习和记忆的形成。

临床研究表明,在慢性分裂症患者脑内,至少有 6 个脑区(运动前区、感觉区、缘上回、角回、视觉皮质及视觉联络皮质)的甘氨酸受体结合量增加。刘铁榜等^[8]提出,精神分裂症患者脑脊液中甘氨酸、苯丙氨酸、亮氨酸和丙氨酸的浓度显著高于正常人,提示精神分裂症患者脑脊液中氨基酸浓度的变化数据可作为研究对精神失常有干预作用的重要依据。因此,本文初步筛选用色氨酸、谷氨酸、酪氨酸和甘氨酸作为实验用氨基酸。目前记载的造模方法分为药物造模和非药物造模。药物造模主要选用地卓西平马来酸盐、苯丙胺、苯环己哌啶、致幻剂、神经毒素等造模或用阿朴吗啡诱导小鼠攀爬行为模型。本次试验采用的磷酸可待因造模精神分裂,机理与药物造模中 MK801 模型类似,但主要引发小鼠精神分裂症阴性症状,如情感淡漠和运动机能障碍。

旷场实验是评价实验动物在新异环境中自主行为、探究行为与紧张度的一种常用方法,操作简便,方法可靠。计算机技术和图像处理技术的引入,使动物行为分析的检测指标大为增加,具有高效、无创、灵敏、客观等诸多优点。洞板实验是基于小鼠喜欢探洞的天性而设计的,它能有效反映小鼠对新环境的探索能力。Kamei 等^[9]认为,测试时间内精确记录每个洞穴的进入次数,可量化地反映小鼠对外界的好奇心,考察小鼠的认知能力,也可以有效地分析出小鼠中枢神经系统的功能变化。

精神分裂造模成功后的 BALB/C 小鼠学习、记忆功能明显受损,刻板性行为增加,并且探洞次数下降,常常多次探身进入同一个洞。根据旷场实验和洞板实验的结果,初步发现 L-谷氨酸对精神分裂症状有明显缓解的作用($P < 0.05$),效果堪比对照药物氯丙嗪,高浓度 L-谷氨酸实验效果更为明显。而

酪氨酸显现出明显的促进精神失常发病作用($P < 0.01$)。高低浓度的色氨酸对精神失常则几乎没有干预作用。低浓度甘氨酸表现出轻微减轻精神失常的效果,但高浓度甘氨酸反而具有加重患病作用,这可能与负反馈调节有关,有待进一步探究。

随着来自生活和工作的压力的不断增大以及环境、社会因素和不良饮食习惯等因素的逐渐增加,很多人患有不同程度的精神失常,然而现在治疗的药物价格不菲,而且都有一定的不良反应。因此找到一种有效的、让更多人能够在经济上接受且健康有益的疗法和预防措施就显得极为重要。

在以上筛选的氨基酸中,兴奋性氨基酸(L-谷氨酸)对精神分裂症状有明显缓解效果,且高浓度 L-谷氨酸实验效果更为明显。而酪氨酸则显现出显著的促进精神失常发病的作用。因此,为预防和缓解精神失常,建议人们日常生活中在一定限度内多食用含有谷氨酸的食物,如西红柿、芝士、蘑菇、黍米、青豆等,同时应尽量避免过多摄入含有酪氨酸的食物,如某些豆类、瘦肉、及动物内脏等。

【参考文献】

[1] 李文君. 精神分裂症候选基因的遗传学研究[D/OL]. 中国博

士学位论文全文数据库, 吉林大学, 2008. <http://cdmd.cnki.com.cn/Article/CDMD-10183-2008126880.htm>.

- [2] 钟慧军, 刘军红, 彭亮, 等. 多巴胺 D4 受体基因启动子区多态性与精神分裂症的相关性[J]. 现代生物医学进展, 2010, 10(17): 3231-3234.
- [3] 吃垃圾食品影响脑部健康[N]. 江门日报, 2007-8-22(B4 版).
- [4] 王一芳, 石海明, 焦冬生, 等. 杏仁核毁损范围与难治性精神分裂症疗效的关系探讨[J]. 东南国防医药, 2007, 9(3): 169-171.
- [5] 顾景范. 人体氨基酸需要量[J]. 氨基酸和生物资源, 1979, 2: 28-34.
- [6] 丁澄, 金玫蕾. 精神分裂症动物模型的拓展及在相关基因和药物筛选中的应用[D/OL]. 中国硕士学位论文全文数据库, 中国科学院研究院(上海生命科学研究院), 2005. <http://cdmd.cnki.com.cn/Article/CDMD-80100-2005098886.htm>.
- [7] 方贻儒, 王祖承. 精神分裂症的谷氨酸假说[J]. 上海精神医学, 2004, 16(1): 43-45.
- [8] 刘铁榜, 章华, 臧德馨. 精神分裂症与兴奋性氨基酸[J]. 国外医学: 精神病学分册, 1994, 21(3): 129-134.
- [9] Kamei J, Matsunawa Y, Miyata S, et al. Effects of nociceptin on the exploratory behavior of mice in the hole-board test[J]. Eur J Pharmacol, 2004, 489(1-2): 77-87.

(收稿日期: 2011-05-26; 修回日期: 2011-07-19)

(本文编辑: 张仲书; 英文编辑: 王建东)

(上接第 405 页)

功能, 中间代谢产物茯苓次聚糖对胃癌有防治作用^[7]; 黄芩、半夏具有抗炎杀幽门螺杆菌作用, 黄芪多糖能提高机体非特异免疫、体液免疫和细胞免疫, 提高自然杀伤细胞细胞活性的作用, 并具有抗氧化作用, 使血液中的超氧化物歧化酶活性升高, 过氧化脂质含量下降, 有效清除氧自由基^[8]。根据以上中医药理论及现代医学对药物研究成果拟定的“胃特安”片组方, 能充分发挥中医药的整体调节效应, 提高机体免疫力, 并具有抗损伤、抗氧化作用。其在保护胃黏膜, 逆转肠上皮化生、异型增生方面确有西药不及之处。结合射频灼除疣状病灶, 西药抑酸根除 Hp, 三者联合治疗疣状胃炎, 具有高效、操作方便、组织损伤小, 肠上皮化生与异型增生逆转率高等优点, 值得进一步研究和临床推广。

【参考文献】

[1] 朱明华, 戴文森, 丁华野, 等. 疣状胃炎的病理学和单克隆抗

体 MG7 免疫组化检查[J]. 第四军医大学学报, 1990, 11(4): 273-274.

- [2] 张锦坤. 胃炎悉尼新分类[J]. 中华消化杂志, 1991, 11(2): 109.
- [3] 吴云林. 消化内科新进展[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 103-162.
- [4] 董崇海, 曲玲, 郭春霞, 等. 氩离子凝固术治疗成熟型疣状胃炎的疗效观察[J]. 中国医药, 2007, 2(1): 27.
- [5] 林国伟, 黄跃, 李剑英, 等. 疣状胃炎 1897 例临床分析[J]. 中国内镜杂志, 2005, 11(12): 1320-1321.
- [6] 沈鹰. 健脾方药对胃黏膜保护作用的研究及其意义[J]. 世界华人消化杂志. 1999, 7(4): 357-358.
- [7] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 精选本[M]. 上海: 上海科技教育出版社, 1996: 1686-1688.
- [8] 王冠庭. 实用消化系统肿瘤学[M]. 上海: 上海科技教育出版社, 1995: 183-185.

(收稿日期: 2011-04-06; 修回日期: 2011-05-23)

(本文编辑: 张仲书; 英文编辑: 王建东)