

· 实验研究 ·

氯胺酮对疼痛抑郁共病大鼠行为学及吲哚胺 2,3 二加氧酶信号通路的影响

韩金凤 徐宁 潘薇 张广芬 周志强 周脉涛

【摘要】 目的 观察氯胺酮对疼痛抑郁共病大鼠行为学及吲哚胺 2,3 二加氧酶(IDO)信号通路的影响。**方法** 健康成年雄性 SD 大鼠 24 只,2 月龄,体重 200~250 g,随机分为三组:对照组(S 组)、生理盐水组(N 组)和氯胺酮组(K 组),每组 8 只。N 组及 K 组大鼠均接受右踝关节腔内完全弗氏佐剂(CFA)50 μ l 注射,建立疼痛抑郁共病模型;S 组大鼠则注射生理盐水 50 μ l 作为对照。CFA 注射后 1、7、14 d 分别测定机械性缩足反射阈值(MWT)及不动时间。第 14 天行为学测试后,N 组大鼠腹腔注射生理盐水 1 ml,K 组则注射 20 mg/kg 氯胺酮 1 ml。三组大鼠于腹腔注射后 1 h 测定 MWT 及不动时间。随后取大鼠海马、前额皮层、扣带回组织及血浆,采用 ELISA 法测定 IL-6 浓度及 IDO 活性。**结果** 与 S 组比较,N 组及 K 组 CFA 注射后 1、7、14 d MWT 明显降低($P<0.05$),CFA 注射后 7、14 d 不动时间明显延长($P<0.05$)。与 N 组比较,K 组 MWT 明显升高($P<0.05$),不动时间明显缩短($P<0.05$),大鼠海马、前额皮层、扣带回 IL-6 浓度和 IDO 活性均明显下降($P<0.05$)。**结论** 氯胺酮可有效治疗疼痛抑郁共病,这可能与抑制大鼠不同脑区 IDO 信号通路活性有关。

【关键词】 疼痛;抑郁;氯胺酮;IL-6;吲哚胺 2,3 二加氧酶

Effects of ketamine on the behavior and indoleamine 2,3-dioxygenase signaling pathway in rats with pain and depression comorbidity HAN Jinfeng, XU Ning, PAN Wei, ZHANG Guangfen, ZHOU Zhiqiang, ZHOU Maitao. Jiangsu Province Key Laboratory of Anesthesiology, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221004, China

Corresponding author: ZHOU Maitao, Email: zmt1969@126.com

【Abstract】 Objective To observe the effects of ketamine on the behavior and indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) signaling pathway in the rats with pain and depression comorbidity. **Methods** Twenty-four male adult SD rats, aged 2 months, weighing 200-250 g, were randomized into three groups: control group (group S), saline group (group N) and ketamine group (group K), eight in each group. CFA (50 μ l) was injected into the right tibiotarsal joint cavity to establish the model of pain and depression comorbidity in the groups N and K, whereas saline (50 μ l) was injected in the group S. The mechanical withdrawal threshold (MWT) and the immobility time were measured 1, 7, and 14 days after the CFA injection. After the behavioral tests 14 days after the CFA injection, saline (1 ml) was intraperitoneal administrated in the group N and ketamine 20 mg/kg (1 ml) was intraperitoneal administrated in the group K 14 days after CFA injection. The MWT and immobility time were measured 1 h after administration in the three groups to evaluate the behavioral changes. Then, the hippocampus, prefrontal cortex, cingulate gyrus and plasma were harvested to determine the levels of IL-6 and IDO using an enzyme-linked immunosorbent assay after the behavioral tests. **Results** Compared with the group S, the MWT was decreased and the immobility time was significantly increased in the group N and group K ($P<0.05$). Compared with the group N, the MWT was increased ($P<0.05$), the immobility time was decreased ($P<0.05$), and the levels of IL-6 and IDO in the hippocampus, prefrontal cortex and cingulate gyrus were significantly decreased in the group K ($P<0.05$). **Conclusion** Ketamine can effectively treat pain and depression comorbidity, which may be attributed to the inhibition of IDO signaling pathway in different brain regions of rats.

【Key words】 Pain; Depression; Ketamine; IL-6; Indoleamine 2,3-dioxygenase

基金项目:国家自然科学基金(81471105,81503053,81571083);江苏大学临床科技发展基金(20140164);无锡市卫生局科研项目(ZD201404)

作者单位:221004 徐州医科大学 江苏省麻醉学重点实验室(韩金凤、徐宁);南京大学医学院临床学院 南京军区南京总医院麻醉科(潘薇、张广芬、周志强);解放军第一〇一医院麻醉疼痛科(周脉涛)

通信作者:周脉涛,Email: zmt1969@126.com

慢性疼痛与抑郁常同时存在,约 30%~60%慢性疼痛患者伴有抑郁症状,51.8%~59.1%抑郁患者也表现出疼痛症状^[1,2]。炎症因子在慢性疼痛^[3]和抑郁^[4]的发生和维持中发挥重要作用。炎症因子可激活色氨酸(TRP)代谢的关键酶吲哚胺 2,3

二加氧酶(IDO),促进疼痛抑郁共病的发展^[5]。目前常同时使用镇痛和抗抑郁药物治疗疼痛抑郁共病患者,但临床效果并不显著。氯胺酮可用于术中、术后及其他类型疼痛的治疗,且具有快速有效的抗抑郁作用^[6,7]。本研究通过观察氯胺酮对疼痛抑郁共病大鼠行为学及不同脑区 IDO 活性的影响,探讨氯胺酮治疗疼痛抑郁共病的效果及相关作用机制。

材料与方法

实验动物及分组 健康成年雄性 SD 大鼠 24 只,2 月龄,体重 200~250 g,由南京军区南京总医院比较医学科提供。在室温 25℃、相对湿度为 45% 的动物房适应性饲养 1 周,自由饮水,标准饮食。将大鼠随机分为三组:对照组(S 组)、生理盐水组(N 组)、氯胺酮组(K 组),每组 8 只。

疼痛抑郁共病模型建立 七氟醚吸入麻醉后,将制备好的完全弗氏佐剂(CFA)50 μ l 注射至 N 组及 K 组大鼠右踝关节腔内建立 CFA 关节炎疼痛抑郁共病模型,S 组则注射 50 μ l 生理盐水作为对照。注射后 1、7、14 d 行机械性缩足反射阈值(MWT)及不动时间测定。

药物干预 第 14 天行为学测试后,根据分组对大鼠进行不同药物干预,N 组大鼠腹腔注射生理盐水 1ml,K 组腹腔注射 20mg/kg 氯胺酮 1 ml(批号:KH140303)。给药后 1 h,N 组及 K 组行行为学测试。

机械缩足阈值(MWT)测定 将大鼠分别放置于金属筛网上的有机玻璃箱里,安静 15 min,以硬性 Von Frey 纤维垂直刺其右后肢足底中部皮肤,缓慢增加刺激压力,大鼠出现抬足、舔足、躲避等反应时,记录 ElectrovonFrey 读数器上显示的最大值(g)。设定切断压力为 200,避免损失大鼠足底组织。每只大鼠重复测量 5 次,间隔 5 min,去除最大和最小值,计算 3 次的平均值即为大鼠的 MWT 值。

强迫游泳实验 把大鼠放在 1 个透明玻璃容器(高 65 cm,直径 30 cm,水深 40 cm,温度 24~26℃)中强迫游泳。每次测试 6 min,记录后 5 min 大鼠的不动时间。每只大鼠单独测试,换水后测试下一只大鼠。

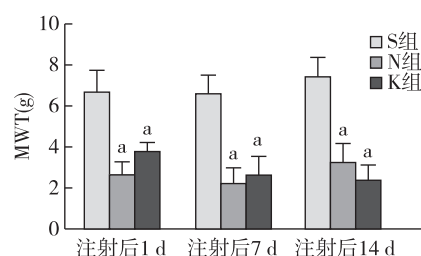
IL-6 和 IDO 水平测定 采用 ELISA 法检测大鼠海马、前额皮层、扣带回、血浆 IL-6 浓度和 IDO 活性。戊巴比妥钠 60 mg/kg 腹腔注射麻醉后快速断头,取海马、前额皮层、扣带回及血浆。称取组

织,按质量容积比加入 9 倍的生理盐水制成 10% 组织匀浆,2 500 r/min 离心 10 min,取上清再用生理盐水 10 倍稀释待测。取样 40 μ l,严格按照试剂盒的说明进行操作,计算样本含量。

统计分析 采用 SPSS 16.0 软件分析。正态分布计量资料以均数 $\pm$ 标准误($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,组内比较采用重复测量方差分析,两两比较采用 Tukey 法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

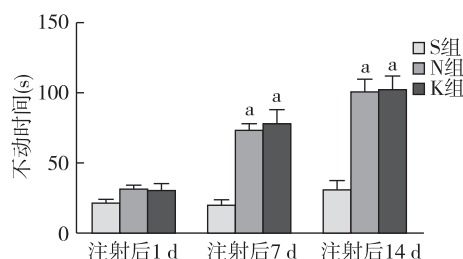
结 果

CFA 注射后 1、7、14 d,N 组及 K 组 MWT 明显低于 S 组($P < 0.05$);CFA 注射后 7、14 d,N 组及 K 组不动时间均明显长于 S 组($P < 0.05$)(图 1,2)。



注:与 S 组比较,* $P < 0.05$

图 1 三组大鼠踝关节腔注射 CFA 后不同时间点 MWT 的比较



注:与 S 组比较,* $P < 0.05$

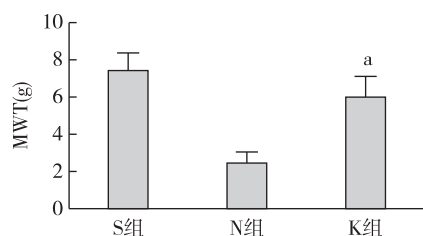
图 2 三组大鼠踝关节腔注射 CFA 后不同时间点不动时间的比较

大鼠腹腔注射后,K 组 MWT 明显高于 N 组($P < 0.05$),不动时间明显短于 N 组($P < 0.05$)(图 3,4)。

K 组海马、前额皮层、扣带回 IL-6 浓度和 IDO 活性均明显低于 N 组($P < 0.05$)(图 5,6)。

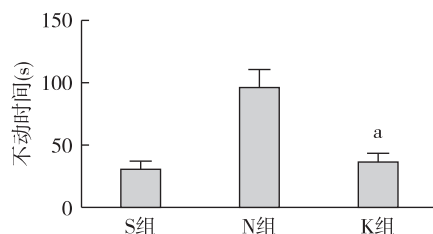
讨 论

慢性疼痛可表现抑郁样行为,抑郁也可伴发疼痛,两者相互影响并相互作用。动物实验中常用神



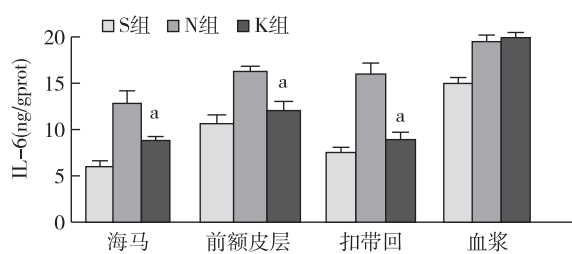
注:与 N 组比较, ^a $P < 0.05$

图 3 三组大鼠腹腔注射后 MWT 的比较



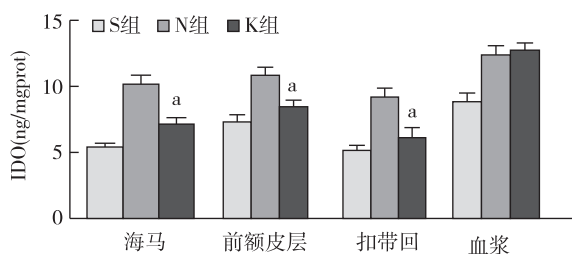
注:与 N 组比较, ^a $P < 0.05$

图 4 三组大鼠腹腔注射后不动时间的比较



注:与 N 组比较, ^a $P < 0.05$

图 5 三组大鼠海马、前额皮层、扣带回及血浆 IL-6 浓度的比较



注:与 N 组比较, ^a $P < 0.05$

图 6 三组大鼠海马、前额皮层、扣带回及 IDO 活性的比较

经病理性痛、炎性痛等模型诱发抑郁样表现以研究慢性疼痛与抑郁的关系^[8, 9]。研究表明,涉及关节的炎性痛可增加抑郁症的发病风险^[10],因此,本研究采用大鼠踝关节腔注射 CFA 建立大鼠关节炎

疼痛模型,结果显示 CFA 注射后 7、14 d 大鼠 MWT 明显降低,不动时间明显延长,表明疼痛抑郁共病模型建立成功。

动物实验表明氯胺酮能够剂量相关性地产生产抗抑郁、镇痛、拟精神分裂及麻醉作用。研究表明 2.5~25.0 mg/kg 的氯胺酮具有显著的抗抑郁作用^[7, 11, 12]。有研究认为氯胺酮单次剂量 < 20 mg/kg 并不能产生有效镇痛作用,大于该剂量可能对于疼痛有益^[13]。氯胺酮给药剂量超过 25 mg/kg 或者 30 mg/kg 能够产生拟精神分裂样作用^[14]。以往研究亦表明氯胺酮 30 mg/kg 单次给药后大鼠自主运动增加、产生显著的刻板行为^[7]。如果氯胺酮剂量超过 80 mg/kg 则能产生麻醉作用。因此,本实验选用 20 mg/kg 剂量,结果表明氯胺酮给药后 1、24 h MWT 明显升高,不动时间明显缩短,提示产生了快速有效的镇痛及抗抑郁作用。本实验仅检测了给药后 24 h 内的行为学变化,因此氯胺酮是否能对疼痛抑郁共病产生持续治疗作用尚不清楚。

TRP 是体内必需氨基酸,是合成 5-羟色胺(5-HT)及犬尿氨酸(KYN)的前体物质。IDO 是 TRP 代谢的关键酶,可由一种或多种炎症细胞因子激活。炎症细胞因子通过激活其下游 Janus 激酶-信号转导子与转录激活子(JAK/STAT) 信号通路促进 IDO 表达,导致 KYN 合成增加,KYN 可进一步代谢为具有神经毒性的喹啉酸(QUIN),同时,具有神经保护作用的 5-HT 生成减少。研究表明,脑内由炎症细胞因子激活的 IDO 通过调节 TRP 代谢,影响疼痛和抑郁共病的发生发展,疼痛抑郁共病大鼠脑组织中 IL-6 及 IDO 表达均上调,且抑制炎症细胞因子表达后疼痛抑郁行为明显改善^[15]。慢性疼痛和抑郁在多个脑区结构和功能上表现有重叠,目前研究较广泛的是海马、皮层、扣带回、小脑、下丘脑等^[16]。前期研究证实氯胺酮抗抑郁作用可能与其降低前额皮层及海马 IL-1 β 、IL-6 水平有关^[17]。因此本实验选取大鼠海马、前额皮层、扣带回及血浆进行研究,检测 IDO 信号通路上的两个关键指标 IL-6 及 IDO。本实验结果提示,氯胺酮给药后大鼠海马、前额皮层及扣带回中 IL-6 浓度及 IDO 活性均明显降低。

综上所述,抑制 IDO 信号通路可能是氯胺酮治疗疼痛抑郁共病的一个重要机制,IDO 信号通路抑制可导致其下游的神经毒性代谢产物降低,5-HT 水平增加,从而缓解大鼠疼痛抑郁共病行为。

参 考 文 献

- [1] Bair MJ, Robinson RL, Katon W, et al. Depression and pain comorbidity: a literature review. *Arch Intern Med*, 2003, 163(20): 2433-2445.
- [2] Maletic V, Raison CL. Neurobiology of depression, fibromyalgia and neuropathic pain. *Front Biosci*, 2009, 14: 5291-5338.
- [3] Nadeau S, Filali M, Zhang J, et al. Functional recovery after peripheral nerve injury is dependent on the pro-inflammatory cytokines IL-1 β and TNF: implications for neuropathic pain. *J Neurosci*, 2011, 31(35): 12533-12542.
- [4] Anisman H, Hayley S. Inflammatory factors contribute to depression and its comorbid conditions. *Sci Signal*, 2012, 5(244): 45.
- [5] Dobos N, de Vries EF, Kema IP, et al. The role of indoleamine 2,3-dioxygenase in a mouse model of neuroinflammation-induced depression. *J Alzheimers Dis*, 2012, 28(16): 905-915.
- [6] Kurdi MS, Theerth KA, Deva RS. Ketamine: Current applications in anesthesia, pain, and critical care. *Anesth Essays Res*, 2014, 8(3): 283-290.
- [7] Zhou Z, Zhang G, Li X, et al. Loss of phenotype of parvalbumin interneurons in rat prefrontal cortex is involved in antidepressant and pro-psychotic-like behaviors following acute and repeated ketamine administration. *Mol Neurobiol*, 2015, 51(2): 808-819.
- [8] Kim H, Chen L, Lim G, et al. Brain indoleamine 2,3-dioxygenase contributes to the comorbidity of pain and depression. *J Clin Invest*, 2012, 122(8): 2940-2954.
- [9] Yalcin I, Bohren Y, Waltisperger E, et al. A time-dependent history of mood disorders in a murine model of neuropathic pain. *Biol Psychiatry*, 2011, 70(10): 946-953.
- [10] Gerrits MM, van Oppen P, van Marwijk HW, et al. Pain and the onset of depressive and anxiety disorders. *Pain*, 2014, 155(1): 53-59.
- [11] Maeng S, Zarate CA Jr, Du J, et al. Cellular mechanisms underlying the antidepressant effects of ketamine: Role of α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid receptors. *Biol Psychiatry*, 2008, 63(4): 349-352.
- [12] Gigliucci V, O'Dowd G, Casey S, et al. Ketamine elicits sustained antidepressant-like activity via a serotonin-dependent mechanism. *Psychopharmacology (Berl)*, 2013, 228(1): 157-166.
- [13] Wang J, Goffer Y, Xu D, et al. A single subanesthetic dose of ketamine relieves depression-like behaviors induced by neuropathic pain in rats. *Anesthesiology*, 2011, 115(4): 812-821.
- [14] Sohal VS, Zhang F, Yizhar O, et al. Parvalbumin neurons and gamma rhythms enhance cortical circuit performance. *Nature*, 2009, 459(7247): 698-702.
- [15] Walker AK, Kavelaars A, Heijnen CJ, et al. Neuroinflammation and comorbidity of pain and depression. *Pharmacol Rev*, 2014, 66(1): 80-101.
- [16] Gormsen L, Jensen TS, Bach FW, et al. Pain and depression. *Ugeskr Laeger*, 2006, 168(20): 1967-1969.
- [17] Yang C, Hong T, Shen J, et al. Ketamine exerts antidepressant effects and reduces IL-1 β and IL-6 levels in rat prefrontal cortex and hippocampus. *Exp Ther Med*, 2013, 5(4): 1093-1096.

(收稿日期:2015-12-01)

• 消息 •

《临床麻醉学杂志》2017 年重点号征文通知

《临床麻醉学杂志》拟于 2017 年出刊三个专辑:“超声引导神经阻滞用于麻醉和手术后镇痛”、“麻醉与围术期脏器保护”和“神经外科麻醉的围术期处理”,与此相关的临床研究、实验研究、临床经验、综述、继续教育、知识更新、病例报道等均可投稿。稿件经编委审核后择优刊用。投稿请登录 <http://www.lcmzxzz.com>,并在文题后注明“重点号”。编辑部联系电话:025-83472912,Email:jca@lcmzxzz.com。