· 研究简报 ·

音乐干预对慢性阻塞性肺疾病合并抑郁大鼠抑郁情绪的影响

邹潇 王玲

【摘要】目的 观察音乐干预对慢性阻塞性肺疾病(COPD)合并抑郁大鼠抑郁情绪的影响,并探讨其可能作用机制。**方法** 采用随机数字表法将 48 只雄性 SD 大鼠分为正常组、模型组及音乐组,每组 16 只。模型组大鼠采用烟熏结合脂多糖(LPS)气管内滴入诱导 COPD 模型,同时采用孤养并结合慢性轻度不可预见性应激(CUMS)复制抑郁模型;音乐治疗组大鼠采用与模型组相同的方法造模,但在造模过程中全程给予音乐干预。各组造模时长 28 d。造模后观察大鼠呼吸、毛发状况、运动量及体质量等情况,采用糖水实验和强迫游泳实验对大鼠进行行为学检查,采用 ELISA 法检测大鼠海马脑源性神经营养因子(BDNF)表达。**结果** 模型组大鼠造模后活动减少,呼吸频率升高,口鼻分泌物明显增多,伴咳嗽,体质量、糖水偏好率明显降低,游泳不动时间明显增加,海马 BDNF 含量显著降低,与正常组及音乐组间差异均具有统计学意义($P<0.05$)。音乐组大鼠一般情况好于模型组,体质量、糖水偏好率均超过模型组($P<0.05$),游泳不动时间短于模型组($P<0.05$),海马 BDNF 含量高于模型组($P<0.05$)。**结论** 音乐干预可有效改善 COPD 合并抑郁大鼠一般情况及抑郁情绪,并能一定程度上抑制海马 BDNF 减少。

【关键词】 音乐干预; 慢性阻塞性肺疾病; 抑郁; 脑源性神经营养因子; 海马

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是呼吸系统常见疾病,以进行性不可逆性气道阻塞为主要特征。由于病程长、反复发作、迁延不愈、病情逐渐加重、生活能力逐渐下降等原因,COPD 患者常合并焦虑及抑郁情绪^[1]。有多项研究显示,音乐治疗可有效改善焦虑症及抑郁症患者不良情绪^[2-3]。脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)是脑内合成的一种蛋白质,广泛分布于中枢神经系统内,对神经元存活、分化、生长发育具有重要作用,能防止神经元受损死亡、促进受损神经元再生及分化^[4]。有研究指出,BDNF 是抗抑郁治疗的重要靶点之一^[5-6]。音乐疗法治疗抑郁症的机制也可能与调控 BDNF 水平有关^[7-8]。基于上述背景,本研究拟观察音乐治疗对 COPD 合并抑郁大鼠的治疗效果及对大鼠海马 BDNF 表达的影响,从而初步探讨其作用机制。

材料与方 法

一、主要试剂与仪器

脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)购于美国 Sigma 公司;黄鹤楼香烟(焦油含量 12 mg, 烟气烟碱量 1.1 mg, 烟气一氧化碳量 13 mg)购于武汉卷烟厂;BDNF ELISA 试剂盒购于美国 Chemicon 公司;其他化学试剂均为国产分析纯试剂;自制熏烟箱(尺寸规格为 90 cm×90 cm×50 cm)。

二、实验动物及分组

选取清洁级成年雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠,体质量 180~200 g,由武汉大学医学院实验动物中心提供。首先通过开野实验对大鼠进行行为学评分,选择得分相近的实验大鼠 48 只。经适应性饲养 7 d,饲养室温度(23±2)℃,自然光照,自由

进食。采用随机数字表法将上述大鼠分为正常组、模型组及音乐组,每组 16 只。研究期间正常组大鼠以每笼 4 只饲养,正常进食,不给予任何刺激;模型组则构建 COPD 合并抑郁障碍大鼠模型;音乐组在构建 COPD 合并抑郁障碍大鼠模型过程中给予音乐干预。

三、COPD 合并抑郁障碍大鼠模型构建

参照相关文献[9-11]介绍方法制作 COPD 合并抑郁障碍大鼠模型,造模大鼠均单只单笼孤养,造模时长 28 d。于入组第 1 天及第 14 天时将大鼠麻醉,向大鼠气道内滴入 LPS(1 g/L) 200 μl,然后将大鼠直立,旋转 30 s 后放回笼内。除第 1 天和第 14 天外,其余 26 d 均每天将大鼠置于熏烟箱内给予烟熏处理,每次持续 30 min,每次烟熏总量为 12 支烟,每天烟熏 2 次(上午、下午各 1 次)。待每天下午烟熏结束后,随机给予下列刺激中的 1 种,同种刺激不连续出现,具体刺激项目包括昼夜颠倒 24 h、束缚 2 h、禁食 24 h、禁水 24 h、冰水游泳 10 min(水温 4℃)、置于温箱(45℃)内 5 min、夹尾 2 min、置于倾斜 45°笼内 24 h、置于湿笼内 24 h、足底电击 30 次(电流强度 1.0 mA,频率 1 Hz,每次电击持续 5 s)、将鼠笼置于振荡器(100 次/min)水平振荡 15 min 等。

四、音乐治疗

音乐组大鼠在接受烟熏、LPS 气管滴入和各种刺激时,均滚动播放民乐演奏曲《春江花月夜》和《步步高》;模型组大鼠在接受烟熏、LPS 气管滴入和各种刺激时,均不播放相应音乐。

五、大鼠一般状况观察及行为学评分

实验进行 28 d 后,观察各组大鼠呼吸、毛发状况、运动量及体质量等变化。另外本研究还对各组大鼠行为学功能进行评分,具体评定项目包括以下方面。

1. 糖水实验:于造模前、后进行糖水实验,在正式测试前先行进行 2 d 适应性训练,如第 1 天给予大鼠 2 瓶糖水(1%);第 2 天给予大鼠糖水和纯净水各 1 瓶,期间不定期交换 2 个水瓶位置;第 3 天禁食水。于第 4 天进行糖水实验,给予大鼠糖水和纯净水各 1 瓶,每 0.5 h 交换 1 次水瓶位置,计算 1 h 内大鼠糖水及

纯水消耗量。糖水偏好率(%) = 糖水消耗量 / (糖水消耗量 + 纯水消耗量) × 100%^[12]。

2. 强迫游泳实验:于造模前、后进行强迫游泳实验,在正式测试前 1 d 先进行适应性训练,将大鼠放入透明水缸(直径 30 cm)内,水深 30 cm,水温(24.0 ± 0.5)℃,强迫大鼠游泳 15 min;第 2 天更换水缸中的水,再次强迫大鼠游泳 5 min,由对分组不知情的实验人员记录强迫游泳期间大鼠不动时间(即大鼠漂浮不动或轻微活动以保持漂浮状态的时间)^[13]。

六、大鼠海马 BDNF 检测

造模前各组随机取 8 只大鼠断头处死,冰上取脑,分离双侧海马,精密称重后制备 10% 匀浆(加入 9 倍预冷生理盐水),采用 ELISA 法检测 BDNF 水平,具体操作步骤参照说明书。各组剩余 8 只大鼠进行造模处理,当完成行为学测试后断头处死大鼠,采用 ELISA 法检测其海马 BDNF 水平,具体检测方法同上。

七、统计学分析

本研究所得计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 17.0 版统计学软件包进行数据分析,多组比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD Post Hoc 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、各组大鼠一般情况比较

正常组 8 只大鼠全部存活,一般情况好,喜活动,呼吸平稳,毛发光泽度好;模型组大鼠存活 6 只,进食量显著降低,呈拱背状,倦卧,活动少,呼吸频率高,口鼻分泌物明显增加,伴咳嗽;音乐组大鼠存活 6 只,其一般状况好于模型组,但比正常组差。造模前 3 组大鼠体质量组间差异无统计学意义($F = 2.77, P = 0.09$);造模后 3 组大鼠体质量组间差异具有统计学意义($F = 134.70, P = 0.00$);进一步比较发现,模型组大鼠体质量明显低于其他 2 组($P < 0.05$),音乐组大鼠体质量明显低于正常组($P < 0.05$),具体数据见表 1。

二、各组大鼠行为学检查结果分析

糖水实验结果显示:造模前 3 组大鼠糖水偏好率组间差异无统计学意义($F = 1.01, P = 0.39$)。造模后 3 组大鼠糖水偏好率组间差异具有统计学意义($F = 224.71, P = 0.00$);进一步比较发现,模型组大鼠糖水偏好率明显低于其他 2 组($P < 0.05$),音乐组大鼠糖水偏好率亦显著低于正常组水平($P < 0.05$),具体数据见表 1。

强迫游泳实验结果显示:造模前 3 组大鼠游泳不动时间组间差异无统计学意义($F = 1.95, P = 1.17$)。造模后 3 组大鼠游泳不动时间组间差异具有统计学意义($F = 269.39, P = 0.00$);进一步比较发现,模型组大鼠游泳不动时间较其他 2 组明显增加

($P < 0.05$),音乐组大鼠游泳不动时间亦较正常组明显增加($P < 0.05$),具体数据见表 1。

三、各组大鼠海马 BDNF 含量比较

各组大鼠 ELISA 检测结果显示:造模前正常组、模型组及音乐组大鼠海马 BDNF 含量分别为(406.5 ± 13.0) pg/mg、(395.8 ± 6.1) pg/mg 和(399.1 ± 7.7) pg/mg,3 组间差异均无统计学意义($F = 2.16, P = 0.15$)。造模后发现正常组、模型组和音乐组大鼠海马 BDNF 含量分别为(417.6 ± 13.5) pg/mg、(191.5 ± 14.7) pg/mg 和(310.6 ± 7.0) pg/mg,3 组间差异具有统计学意义($F = 575.65, P = 0.00$);进一步比较发现,模型组海马 BDNF 含量明显低于其他 2 组($P < 0.05$),音乐组大鼠海马 BDNF 含量亦明显低于正常组水平($P < 0.05$)。

讨 论

抑郁是 COPD 患者常见并发症之一,其发病率较高,对患者临床疗效及预后恢复均有不利影响^[14],故优化针对 COPD 合并抑郁的治疗手段具有重要临床意义。本课题组在既往研究^[9-11]基础上进行改良,采用烟熏结合 LPS 气管内滴入诱导制作 COPD 模型。烟草烟雾暴露可诱发肺泡腔扩大、肺泡壁破坏、小气道重塑、淋巴细胞聚集及血管重塑、肺动脉高压,可复制多种病理改变,但造模时间长,病理改变程度较轻微^[15];LPS 是革兰阴性杆菌细胞壁成分,也存在于烟草烟雾和空气中,滴入气管内可诱导炎症反应,长期滴入可导致肺泡腔扩大、气管壁增厚等小气道重塑改变^[16]。造模后模型组大鼠多倦卧、活动少、呼吸频率高,口鼻分泌物明显增多且伴咳嗽,提示 COPD 造模成功。本研究同时采用孤养并结合慢性轻度不可预见性应激(chronic unpredictable mild stress, CUMS)复制抑郁症模型。该模型具有应激因子多变及不可预见等特点,与人类抑郁症发生、发展的机制较为接近。造模后可见模型组大鼠进食量显著下降,呈拱背状、倦卧、活动减少,探索兴趣减弱,提示抑郁造模成功。

本研究采用糖水偏好率来评价大鼠快感缺失程度。快感缺失是指对奖赏(糖水)及奖赏水平变化的敏感性降低,糖水偏好率降低是抑郁大鼠核心症状之一;另外强迫游泳实验中的不动时间延长亦提示大鼠存在类抑郁样行为;同时体质量降低也提示大鼠存在抑郁情绪。BDNF 是机体重要的神经营养因子,广泛分布于脑组织内,在海马及脑皮质中的含量尤为集中,对神经元分化、存活及功能维持具有重要作用。相关研究显示,抑郁大鼠海马中 BDNF 表达减少,抑郁症患者血清 BDNF 含量减少,而抗抑郁治疗可阻止海马及血清中 BDNF 减少^[17-18],上述研究均提示抑郁症与海马 BDNF 具有密切联系。

本研究对 COPD 合并抑郁大鼠给予音乐干预,结果显示模型组大鼠造模后体质量、糖水偏好率均明显降低,游泳不动时

表 1 造模前、后 3 组大鼠体质量、糖水偏好率及游泳不动时间比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	体质量(g)		糖水偏好率(%)		游泳不动时间(s)	
		造模前	造模后	造模前	造模后	造模前	造模后
正常组	8	189.3 ± 2.0	259.6 ± 7.0	79.7 ± 3.0	80.9 ± 3.5	42.4 ± 2.7	44.1 ± 3.9
模型组	6	190.5 ± 1.9	214.0 ± 4.2 ^a	80.5 ± 2.2	52.2 ± 1.8 ^a	45.0 ± 2.3	93.6 ± 5.6 ^a
音乐组	6	187.7 ± 2.4	248.8 ± 32.8 ^{ab}	78.5 ± 1.8	60.0 ± 1.9 ^{ab}	43.3 ± 2.3	59.5 ± 2.7 ^{ab}

注:与正常组相同时间点比较,^a $P < 0.05$;与模型组相同时间点比较,^b $P < 0.05$

间明显增加,海马 BDNF 含量显著降低,与正常组、音乐组间差异均具有统计学意义($P<0.05$)。音乐组大鼠的体质量、糖水偏好率均高于模型组($P<0.05$),游泳不动时间较模型组缩短($P<0.05$),海马 BDNF 含量较模型组增加($P<0.05$)。上述结果提示音乐干预可有效缓解 COPD 合并抑郁大鼠抑郁情绪,并抑制海马 BDNF 含量下降。

音乐治疗是通过各种音乐形式正向干预患者情绪,通过患者音乐体验消除其心理障碍,改善不良情绪。目前有多项研究证实,音乐治疗能有效改善患者抑郁症状^[2]。Kamioka 等^[2]对 21 项高质量随机对照实验进行了系统分析,结果显示音乐治疗对抑郁症患者具有良好治疗效果。其治疗机制可能包括:音乐干预能直接作用机体下丘脑和边缘系统等情绪中枢,并抑制肾上腺素和去甲肾上腺素分泌^[19],从而调节负性情绪;另一方面音乐治疗可通过刺激人脑伏核(伏隔核,也称伏核,位于内囊前肢腹侧,尾状核、壳的前下方,在中脑边缘多巴胺系统中居核心地位,该核团与药物成瘾及人的心理行为关系紧密)与腹侧被盖区释放多巴胺,从而调节情绪^[20]。本研究结果显示,音乐治疗还能阻止抑郁大鼠海马 BDNF 含量下降,对改善抑郁情绪也可能具有一定作用。

综上所述,本研究结果表明,音乐治疗可有效改善 COPD 合并抑郁大鼠抑郁情绪,抑制 BDNF 下调可能在其中扮演重要角色,其具体作用机制还有待进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] Yohannes AM, Alexopoulos GS. Depression and anxiety in patients with COPD [J]. *Eur Respir Rev*, 2014, 23 (133): 345-349. DOI: 10.1183/09059180.00007813.
- [2] Kamioka H, Tsutani K, Yamada M, et al. Effectiveness of music therapy: a summary of systematic reviews based on randomized controlled trials of music interventions [J]. *Patient Prefer Adherence*, 2014, 8: 727-754. DOI: 10.2147/PPA.S61340.
- [3] Im ML, Lee JI. Effects of art and music therapy on depression and cognitive function of the elderly [J]. *Technol Health Care*, 2014, 22 (3): 453-458. DOI: 10.3233/THC-140803.
- [4] Wang H, Zhao Y, Wang YJ, et al. Antidepressant-like effects of tetrahydrostilbene glucoside in mice: involvement of BDNF signaling cascade in the hippocampus [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2017. DOI: 10.1111/cns.12708.
- [5] Brunoni AR, Baeken C, Machado-Vieira R, et al. BDNF blood levels after non-invasive brain stimulation interventions in major depressive disorder: A systematic review and meta-analysis [J]. *World J Biol Psychiatry*, 2015, 16 (2): 114-122. DOI: 10.3109/15622975.2014.958101.
- [6] Tuon T, Valvassori SS, Dal Pont GC, et al. Physical training prevents depressive symptoms and a decrease in brain-derived neurotrophic factor in Parkinson's disease [J]. *Brain Res Bull*, 2014, 108: 106-112. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2014.09.006.
- [7] Angelucci F, Ricci E, Padua L, et al. Music exposure differentially al-

ters the levels of brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in the mouse hypothalamus [J]. *Neurosci Lett*, 2007, 429 (2-3): 152-155. DOI: org/10.1016/j.neulet.2007.10.005.

- [8] Li WJ, Yu H, Yang JM, et al. Anxiolytic effect of music exposure on BDNF^{Met/Met} transgenic mice [J]. *Brain Res*, 2010, 1347: 71-79. DOI: 10.1016/j.brainres.2010.05.080.
- [9] 王婕琼, 王传博, 李泽庚, 等. 慢性阻塞性肺疾病合并抑郁障碍大鼠模型的建立 [J]. *临床肺科杂志*, 2014, 19 (1): 4-6. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6663.2014.01.002.
- [10] 姚丽华, 陈建新, 王晓萍, 等. 慢性应激联合孤养 C57 小鼠抑郁模型的研究 [J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2014, 23 (1): 23-24. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-6554.2014.01.007.
- [11] 夏锦芳, 黄梦珊, 王砚, 等. 熏烟和气道内滴入脂多糖建立慢性阻塞性肺疾病大鼠模型 [J]. *医学信息*, 2014, 27 (3): 92-93. DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2014.08.097.
- [12] 候金良, 魏盛, 杜希扬, 等. 抑郁情绪大鼠模型中糖水偏好实验数据的聚合分析 [J]. *实验动物与比较医学*, 2012, 32 (3): 182-185. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5817.2012.03.002.
- [13] Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatment [J]. *Nature*, 1977, 266 (5604): 730-732.
- [14] Qian J, Simoni-Wastila L, Langenberg P, et al. Effects of depression diagnosis and antidepressant treatment on mortality in medicare beneficiaries with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *J Am Geriatr Soc*, 2013, 61 (5): 754-761. DOI: 10.1111/jgs.12220.
- [15] Min MG, Song DJ, Miller M, et al. Coexposure to environmental tobacco smoke increases levels of allergen-induced airway remodeling in mice [J]. *J Immunol*, 2007, 178 (8): 5321-5328. DOI: org/10.4049/jimmunol.178.8.5321.
- [16] Birrell MA, Wong S, Dekkarak A, et al. Role of matrix metalloproteinases in the inflammatory response in human airway cell-based assays and in rodent models of airway disease [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 318 (2): 741-750. DOI: org/10.1124/jpet.106.105544.
- [17] Tsankova NM, Berton O, Renthal W, et al. Sustained hippocampal chromatin regulation in a mouse model of depression and antidepressant action [J]. *Nat Neurosci*, 2006, 9 (4): 519-525. DOI: 10.1038/nn1659.
- [18] Zhou Z, Lu T, Xu G, et al. Decreased serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is associated with post-stroke depression but not with BDNF gene Val66Met polymorphism [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2011, 49 (2): 185-189. DOI: 10.1515/CCLM.2011.039.
- [19] 王凤姣, 王翔. 音乐治疗应用于抑郁症临床疗效观察 [J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2012, 33 (23): 3219-3220. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1256.2012.23.025.
- [20] Bressan RA, Crippa JA. The role of dopamine in reward and pleasure behaviour-review of data from preclinical research [J]. *Acta Psychiatr Scand Suppl*, 2005, 427: 14-21. DOI: 10.1111/j.1600-0447.2005.00540.x.

(修回日期:2017-04-12)

(本文编辑:易浩)