

焦虑性抑郁模型大鼠脑区单胺递质含量与神经因子表达的变化

赵洪庆^{1#}, 韩远山^{2#}, 柳卓¹, 杜青¹, 杨琴², 孟盼¹, 杨蕙², 王宇红^{1*}

(1. 湖南中医药大学, 湖南省中药粉体与创新药物省部共建国家重点实验室培育基地, 长沙 410208;
2. 湖南中医药大学第一附属医院, 长沙 410007)

【摘要】 目的 研究焦虑性抑郁模型大鼠海马、杏仁核、前额叶皮质内单胺递质的含量变化及脑内神经营养因子的表达趋势, 探讨其可能的发病机制。**方法** 60 只 SD 大鼠随机分为正常对照组、溶媒对照组、焦虑模型组、抑郁模型组、焦虑性抑郁模型组, 每组 12 只。采用慢性束缚应激联合皮质酮注射的方法建立焦虑性抑郁大鼠模型, 造模时间为 21 d, 造模结束后采用高架十字迷宫测试, 旷场实验, 强迫游泳实验评价大鼠的焦虑和抑郁样行为, HPLC-ECD 法检测大鼠海马、杏仁核、前额叶皮质的单胺递质 5-HT、NE、DA 含量, 蛋白印迹法检测大鼠各脑区神经营养因子 BDNF、NT-3 的含量。**结果** 焦虑性抑郁模型组大鼠在进入开臂的时间、次数、旷场中自主活动次数均与焦虑组相当, 与对照组及抑郁组比较差异有显著性 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 在强迫游泳中的不动时间显著增加, 与对照组及焦虑组对比差异有显著性 ($P < 0.01$); 同时, 与对照组比较, 焦虑性抑郁模型组大鼠海马 5-HT、杏仁核及前额叶皮质区的 5-HT 和 NE 含量均显著下降 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 此外, 与对照组比较, 焦虑性抑郁模型组大鼠各脑区 BDNF、NT-3 含量显著下降 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 同时与焦虑组比较, BDNF 含量显著下降 ($P < 0.05$)。**结论** 焦虑性抑郁模型组大鼠具有显著的焦虑及抑郁样行为, 其发病机制可能与脑内海马、杏仁核、前额叶皮质区域的单胺递质含量降低及神经营养因子 BDNF、NT-3 表达下调有关。

【关键词】 焦虑性抑郁; 焦虑性抑郁模型; HPLC-ECD; 单胺递质; BDNF; NT-3

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2017) 04-0373-07

Doi: 10.3969/j.issn.1005-4847.2017.04.006

Changes of content of monoamine neurotransmitters and expression of neurotrophic factors in brain regions of rat models of anxious depression

ZHAO Hong-qing¹, HAN Yuan-shan², LIU Zhuo¹, DU Qing¹, YANG Qin², MENG Pan¹, YANG Hui², WANG Yu-hong^{1*}

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Training Bases, Hunan Key Laboratory of Chinese Materia Medical Powder and Innovative Drugs Established by Province and Ministry, Changsha 410208, China; 2. First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007)

【Abstract】 Objective To study the content of monoamine neurotransmitters and neurotrophic factor in the hippocampus, amygdala and prefrontal cortex in anxious depression rats, and explore the possible pathogenesis. **Methods** 60 SD rats were randomly divided into normal group, vehicle group, anxiety group, depression group, and anxious depression group, 12 rats in each group. Chronic restraint stress combined with corticosterone injection was used to establish anxiety and depression model, the modeling time was 21 d. After modeling, elevated plus maze test, open field test, and forced

【基金项目】 国家自然科学基金项目(81403387); 湖南省科技厅重点项目(2015DK3003); 湖南省研究生创新课题(CX2016B371)。

【作者简介】 赵洪庆(1992-), 男, 硕士, 研究方向: 中药神经精神药理, E-mail: 516005398@qq.com; 韩远山(1992-), 男, 硕士, 研究方向: 中药神经精神药理, E-mail: hanyuanshan@qq.com。# 共同第一作者

【通讯作者】 王宇红(1965-), 女, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 中药神经精神药理。E-mail: wyh107@126.com

swimming test were used to evaluate the anxiety and depression-like behavior, HPLC-ECD was used to detect the content of 5-HT, NE, and DA in the hippocampus, amygdala, and prefrontal cortex of rats. Western-blotting was used to detect the expression of BDNF and NT-3 in rats. **Results** Rats in anxious depression model group were comparable to the anxiety group in time and frequency entering open arm time, and number of locomotor activity in open field, and it had a significant difference when compared with the control and depression groups ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). Immobile time in anxious depression model rats was increased significantly when compared with the control and anxiety groups ($P < 0.01$). Meanwhile, compared with the control group, 5-HT in hippocampus and 5-HT, NE in amygdala or prefrontal cortex were significantly decreased in the depressive rats with anxiety ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). Moreover, the content of BDNF and NT-3 was significantly decreased in each brain regions compared with the control group ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), and BDNF levels were obviously decreased compared with the anxiety group ($P < 0.05$). **Conclusions** Rats of anxious depression have significant anxiety and depression-like behaviors. Its mechanism may be associated with the down-regulation of monoamine neurotransmitters and neurotrophic factors BDNF and NT-3 in hippocampus, amygdala, and prefrontal cortex region.

【Key words】 Anxious depression; Anxious depression model; HPLC ECD; Monoamine neurotransmitters; BDNF; NT-3

Corresponding author: WANG Yu-hong. E-mail: wyh107@126.com

抑郁障碍是一类极为复杂的情感障碍性疾病,共患焦虑特征(即焦虑性抑郁)是影响其临床表现及治疗的诸多因素中最常见和最重要的因素之一^[1]。临床研究表明,85%的抑郁患者伴有焦虑症状,同时抑郁与焦虑共病的比例高达80%~90%。共患焦虑是导致抑郁治疗阻抗最常见的因素之一^[2]。焦虑性抑郁与单独的抑郁症相比,具有症状重、病程慢性化、社会功能损害重、自杀率高和预后差等特征,因此,有效识别焦虑性抑郁患病特征,研究其发病机制,对于该疾病的防治具有重要科学意义。

研究表明,在焦虑和抑郁模型大鼠中,均存在脑内单胺递质失调和神经营养缺失等现象^[3-4],但是在焦虑性抑郁模型大鼠中,脑内单胺递质含量如何变化,神经营养因子如何表达,对比焦虑或抑郁大鼠是否有显著区别,尚未见相关报道。本实验拟采用慢性皮质酮注射联合束缚应激建立焦虑性抑郁大鼠模型,通过对比焦虑和抑郁模型大鼠,研究焦虑性抑郁模型大鼠海马、杏仁核、前额叶皮质部位的单胺递质 5-HT、NE、DA 含量以及脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)、神经营养因子-3(neurotrophins-3, NT-3)的表达情况,阐明焦虑性抑郁的部分发病机制,为该疾病的临床防治提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

雄性 SPF 级 SD 大鼠 60 只,180~220 g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司[SCXK(湘)2013-0004],饲养于湖南中医药大学第一附属医院 SPF

级实验动物中心[SYXK(湘)2015-0003]。大鼠购入后先适应性饲养 5 d。

1.2 试剂

皮质酮(索莱宝生物公司,北京);5-HT、NE、DA 对照品(中国药品生物制品检定所,北京);兔抗鼠 BDNF、NT-3 多克隆抗体(Abcam 公司,英国);高氯酸、庚烷磺酸钠、乙二胺四乙酸(EDTA)(Sigma 公司,美国);RIPA 裂解液、羊抗兔 IgG-HRP 二抗(博士德生物公司,武汉)。

1.3 主要仪器

DL-1 高架十字迷宫(肯基科技公司,长沙);1260 型高效液相色谱仪(安捷伦,美国);SDC 电化学检测器(Antec,荷兰);电泳仪、电泳槽、凝胶成像分析系统(Bio-Rad,美国);超微量蛋白核酸分析仪(BioDrop,英国);5810R 低温高速离心机(Eppendorf,德国);AL204 电子天平(梅特勒-托利多,瑞士)。

1.4 分组与造模

将 60 只大鼠随机分为 5 组,包括正常对照组,溶媒对照组,焦虑模型组,抑郁模型组,焦虑性抑郁模型组,每组 12 只。其中,正常对照组大鼠正常饲养,溶媒对照组大鼠每天给予皮下注射生理盐水(内含 1% DMSO)。除对照组外,各模型大鼠均孤笼饲养,具体造模方法如下。

1.4.1 焦虑模型组

采用不确定性空瓶应激的造模方法^[5],进行定时喂水训练 7 d。7 d 后开始应激实验,随机选取一个时间段作为空瓶应激时间点,以空水瓶诱发情绪应激,持续 14 d。

1.4.2 抑郁模型组

参照文献^[6],按 40 mg/kg 的给药剂量给予大鼠皮下注射皮质酮,持续 21 d。

1.4.3 焦虑性抑郁模型组

采用束缚应激联合皮质酮注射(30 mg/kg)的方法进行造模,每天 9:00~15:00 对大鼠进行束缚,束缚结束后对大鼠皮下注射皮质酮,共 21 d。

造模结束后,于第 22 天依次进行旷场测试、高架十字迷宫测试、强迫游泳实验,测试完成后用水合氯醛将大鼠麻醉,取血样以及大脑海马、杏仁核、前额叶皮质等组织备用。

1.5 行为学测试

1.5.1 高架十字迷宫实验

将大鼠放入迷宫的中央平台处,使其头部正对封闭臂,释放后记录以下指标:① 进入开放臂次数(OE);② 进入封闭臂次数(CE);③ 进入开放臂时间(OT);④ 进入封闭臂时间(CT)。由上述指标计算出:① 总穿臂次数(TE):OE+CE;② 进入开放臂的比例(OE%):OE/(OE+CE)×100%;③ 开放臂停留时间比例(OT%):OT/(OT+CT)×100%。每只大鼠测试 5 min。

1.5.2 旷场测试

测试敞箱长宽高分别为 80 cm、80 cm、40 cm,底面平均划分为 25 个小方格。实验前 30 min 将待测大鼠放入测试房间,将大鼠从敞箱中央放入,观察并记录大鼠 4 min 内水平运动格数以及垂直竖立次数,计算水平和垂直得分的总和。

1.5.3 强迫游泳实验

将大鼠放入高、直径分别为 50 cm、20 cm 的圆柱形游泳筒中,水深约 40 cm,随机选择大鼠,双盲法进行检测。实验开始后 1 min 为适应时间,适应结束后记录 4 min 内大鼠的不动时间(大鼠两前爪停止游动,身体呈漂浮状态记为不动)。

1.6 HPLC-ECD 法测定单胺递质含量

1.6.1 脑组织匀浆样本制备

取冷冻保存的海马、杏仁核、前额叶皮质,称重,按 1:3 比例(杏仁核为 1:10)加入 0.01 mol/L 高氯酸溶液(内含 0.03 mmol/L EDTA,10 ng/mL 内标 DHBA),冰上匀浆,4℃、13 000 r/min 离心 10 min 后取上清液,0.22 μm 针头过滤器过滤后即可进样,每次处理 6 个样本。

1.6.2 色谱条件

色谱柱:Quattro 3 C₁₈ 柱(150 × 2.1 mm, 3 μm);流动相:含 90 mmol/L 单水磷酸二氢钠、50 mmol/L 单水柠檬酸、1.7 mmol/L 辛烷磺酸钠、50 μmol/L EDTA 的混合液—甲醇(87:13);流速:0.2 mL/min;柱温:35℃;进样量:20 μL。

1.6.3 标准曲线的制备

精密称取适量 5-HT、NE、DA 对照品溶于 0.01 mol/L 高氯酸溶液中,配成 1 mg/mL 混合储备液,稀释成 7 个浓度点,从低到高依次为 3.125、6.25、12.5、25、50、100、200 ng/mL,根据各峰面积计算标准曲线,见表 1。

1.7 Western-blotting 法检测 BDNF、NT-3 蛋白含量

取冷冻保存的组织,按 1:5 比例加入 RIPA 裂解液,冰上匀浆,4℃、12 000 r/min 离心 15 min 后取上清液制备组织蛋白提取液,定量,保存待用。按照 Western-blotting 实验方法分别检测各组大鼠海马、杏仁核、前额叶皮质中 BDNF、NT-3 的表达量,以 GAPDH 为内参。应用 ImageJ 图像处理软件对各条带进行扫描,测量灰度值,以目的蛋白和内参蛋白表达量的比值作为组织内蛋白的相对表达水平。

1.8 统计学分析

使用 SPSS 17.0 软件对数据进行统计,计量数据使用均值±标准差(mean±SD)表示。组间差异比较采用单因素方差分析,两两比较方差齐时采用 LSD 检验法,方差不齐时采用 Dunnett's T3 进行两两比较。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

表 1 三种单胺递质对照品的回归方程和线性范围

Tab.1 Regression equations and linear ranges of three monoamine neurotransmitters			
分析物 Analytes	回归方程 Regression equation	线性范围/ ng/mL Linear range	相关系数 <i>r</i> ²
5-HT	<i>y</i> = 115.09 <i>x</i> + 22.263	3.125 – 200	0.9965
NE	<i>y</i> = 113.5 <i>x</i> + 604.4	3.125 – 200	0.9980
DA	<i>y</i> = 222.52 <i>x</i> + 9491.1	6.25 – 200	0.9982

2 结果

2.1 行为学测试结果

2.1.1 高架十字迷宫测试结果

与对照组比较,焦虑组和抑郁组大鼠 TE、OE%、OT% 值均显著下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),焦虑性抑郁模型组大鼠 OE%、OT% 值下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与焦虑组比较,焦虑性抑郁模型组大鼠的 TE、OE%、OT% 值差异均无显著性 ($P > 0.05$)。结果见表 2。

2.1.2 旷场测试结果

与对照组比较,焦虑和抑郁组大鼠自主活动次数显著下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),焦虑性抑郁模型组大鼠活动次数也显著下降 ($P < 0.05$)。与焦虑组比较,抑郁组大鼠的活动次数显著下降 ($P < 0.05$),焦虑性抑郁模型组大鼠的活动次数与焦虑组相当。结果见表 3。

2.1.3 强迫游泳实验结果

与对照组比较,焦虑组大鼠的不动时间差异无显著性 ($P > 0.05$),抑郁组、焦虑性抑郁组大鼠不动时间均显著增加 ($P < 0.01$)。与焦虑组比较,抑郁组、焦虑性抑郁模型组大鼠不动时间均显著增加 ($P < 0.01$)。结果见表 3。

2.2 焦虑性抑郁模型大鼠各脑区单胺递质含量测定结果

与对照组比较,焦虑组大鼠各脑区内 5-HT、NE、DA 含量均显著上升 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),抑郁组大鼠各脑区内 5-HT、NE、DA 含量均显著下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),焦虑性抑郁组大鼠海马 5-HT、杏仁核及前额叶皮质区的 5-HT 和 NE 含量均显著下降 ($P < 0.05$)。与抑郁模型组比较,焦虑性抑郁模型组大鼠海马 5-HT 和 NE、前额叶皮质 5-HT 和 DA 含量明显增加 ($P < 0.05$)。结果见表 4~6,对照品及各脑区样本的色谱图见图 1。

表 2 各组大鼠高架十字迷宫测试中 TE、OE%、OT% 比较 ($n = 10$)

Tab.2 Comparison of TE, OE%, OT% in EPM test in each group rats

组别 Groups	TE	OE/%	OT/%
正常对照组 Control	7.70 ± 2.04	38.96 ± 7.81	20.12 ± 4.82
溶媒对照组 Vehicle	8.10 ± 1.57	42.37 ± 9.24	20.87 ± 5.73
焦虑模型组 Anxiety model	4.00 ± 2.73 ^Δ	25.00 ± 7.12 ^Δ	10.19 ± 2.24 ^Δ
抑郁模型组 Depression model	1.20 ± 0.42 ^{▲▲#}	8.33 ± 1.92 ^{▲▲##}	3.60 ± 1.57 ^{▲▲#}
焦虑性抑郁组 Anxious depression model	5.30 ± 1.40	24.52 ± 7.80 [▲]	7.72 ± 3.82 ^{▲▲}

注:与正常组比较^Δ $P < 0.05$,与溶媒组比较[▲] $P < 0.05$,^{▲▲} $P < 0.01$;与焦虑组比较[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$ 。
Note. ^Δ $P < 0.05$, vs the control group; [▲] $P < 0.05$, ^{▲▲} $P < 0.01$, vs the vehicle group; [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$, vs the anxiety model group.

表 3 各组大鼠活动次数与不动时间比较 ($n = 10$)

Tab.3 Comparison of locomotive activity and immobile time in each group rats

组别 Groups	自主活动次数 Locomotive activity	不动时间 / s Immobile time
正常对照组 Control	61.60 ± 14.30	8.60 ± 2.02
溶媒对照组 Vehicle	54.30 ± 13.41	13.20 ± 4.82
焦虑模型组 Anxiety model	23.00 ± 7.50 ^Δ	14.20 ± 2.24
抑郁模型组 Depression model	11.80 ± 3.65 ^{▲▲#}	47.80 ± 8.50 ^{▲▲##}
焦虑性抑郁组 Anxious depression model	23.00 ± 7.31 [▲]	47.70 ± 9.91 ^{▲▲##}

注:与正常组比较^Δ $P < 0.05$,与溶媒组比较[▲] $P < 0.05$,^{▲▲} $P < 0.01$;与焦虑组比较[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$ 。
Note. ^Δ $P < 0.05$ vs the control group; [▲] $P < 0.05$, ^{▲▲} $P < 0.01$, vs the vehicle group; [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$, vs the anxiety model group.

表 4 各组大鼠海马区单胺递质水平 ($n = 8$, ng/mL)

Tab.4 Comparison of the levels of monoamine neurotransmitters in the rat hippocampus

组别 Groups	5-HT	NE	DA
正常对照组 Control	216.25 ± 32.32	405.09 ± 34.89	169.61 ± 28.41
溶媒对照组 Vehicle	198.10 ± 31.95	385.69 ± 20.71	165.82 ± 32.13
焦虑模型组 Anxiety model	255.31 ± 21.20 ^Δ	446.66 ± 37.26 ^Δ	217.39 ± 25.50 ^Δ
抑郁模型组 Depression model	75.31 ± 10.37 ^{▲▲}	273.71 ± 23.99 [▲]	124.16 ± 22.63 [▲]
焦虑性抑郁组 Anxious depression model	159.89 ± 8.73 ^{▲*}	346.73 ± 19.25 [*]	138.84 ± 11.30

注:与正常组比较^Δ $P < 0.05$,与溶媒组比较[▲] $P < 0.05$,^{▲▲} $P < 0.01$;与抑郁组比较^{*} $P < 0.05$ 。
Note. ^Δ $P < 0.05$, vs the control group; [▲] $P < 0.05$, ^{▲▲} $P < 0.01$, vs the vehicle group; ^{*} $P < 0.05$, vs the depression model group.

表 5 各组大鼠杏仁核区单胺递质水平($n=8$, ng/mL)

Tab. 5 Comparison of the levels of monoamine neurotransmitters in the rat amygdala

组别 Groups	5-HT	NE	DA
正常对照组 Control	383. 87 ± 27. 35	391. 88 ± 49. 39	214. 23 ± 36. 16
溶媒对照组 Vehicle	365. 90 ± 29. 14	376. 40 ± 21. 20	220. 87 ± 18. 73
焦虑模型组 Anxiety model	456. 20 ± 40. 09 ^Δ	506. 55 ± 48. 57 ^{ΔΔ}	247. 65 ± 22. 21 ^Δ
抑郁模型组 Depression model	277. 07 ± 41. 72 [▲]	252. 35 ± 31. 47 ^{▲▲}	181. 50 ± 19. 05 [▲]
焦虑性抑郁组 Anxious depression model	313. 91 ± 32. 63 [▲]	304. 58 ± 45. 61 [▲]	192. 40 ± 19. 70

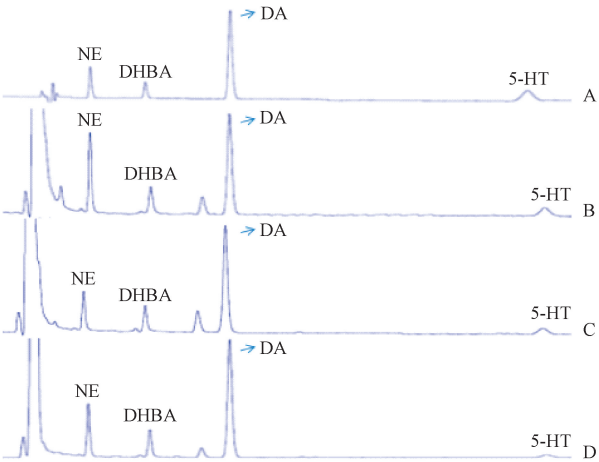
注:与正常组比较^Δ $P<0.05$, ^{ΔΔ} $P<0.01$,与溶媒组比较[▲] $P<0.05$, ^{▲▲} $P<0.01$ 。
Note. ^Δ $P<0.05$, ^{ΔΔ} $P<0.01$, *vs* the control group; [▲] $P<0.05$, ^{▲▲} $P<0.01$, *vs* the vehicle group.

表 6 各组大鼠前额叶皮质区单胺递质水平($n=8$, ng/mL)

Tab. 6 Comparison of the levels of monoamine neurotransmitters in the rat prefrontal cortex

组别 Groups	5-HT	NE	DA
正常对照组 Control	157. 24 ± 33. 31	214. 07 ± 23. 50	120. 62 ± 14. 95
溶媒对照组 Vehicle	161. 46 ± 45. 89	205. 50 ± 37. 92	116. 77 ± 17. 63
焦虑模型组 Anxiety model	196. 19 ± 19. 94 ^Δ	255. 91 ± 23. 54 ^Δ	156. 12 ± 9. 96 ^Δ
抑郁模型组 Depression model	93. 97 ± 15. 50 [▲]	134. 92 ± 18. 91 [▲]	71. 56 ± 7. 86 [▲]
焦虑性抑郁组 Anxious depression model	122. 25 ± 24. 91 ^{▲*}	157. 44 ± 13. 20 [▲]	103. 31 ± 24. 33 [*]

注:与正常组比较^Δ $P<0.05$, ^{ΔΔ} $P<0.01$,与溶媒组比较[▲] $P<0.05$;与抑郁组比较^{*} $P<0.05$ 。
Note. ^Δ $P<0.05$, ^{ΔΔ} $P<0.01$, *vs* the control group; [▲] $P<0.05$, *vs* the vehicle group; ^{*} $P<0.05$, *vs* the depression model group.



注:A. NE, DA, 5-HT 混合对照品;B. 海马组织样本;C. 杏仁核组织样本;D. 前额叶皮质样本。

图 1 HPLC-ECD 法检测不同样本的液相色谱图

Note. A: Mixed standard solution of NE, DA, and 5-HT; B: Rat hippocampus sample; C: Rat amygdala sample; D: Rat prefrontal cortex sample.

Fig. 1 Typical chromatograms of different samples by HPLC-ECD

2.3 焦虑性抑郁模型大鼠各脑区 BDNF、NT-3 蛋白表达情况

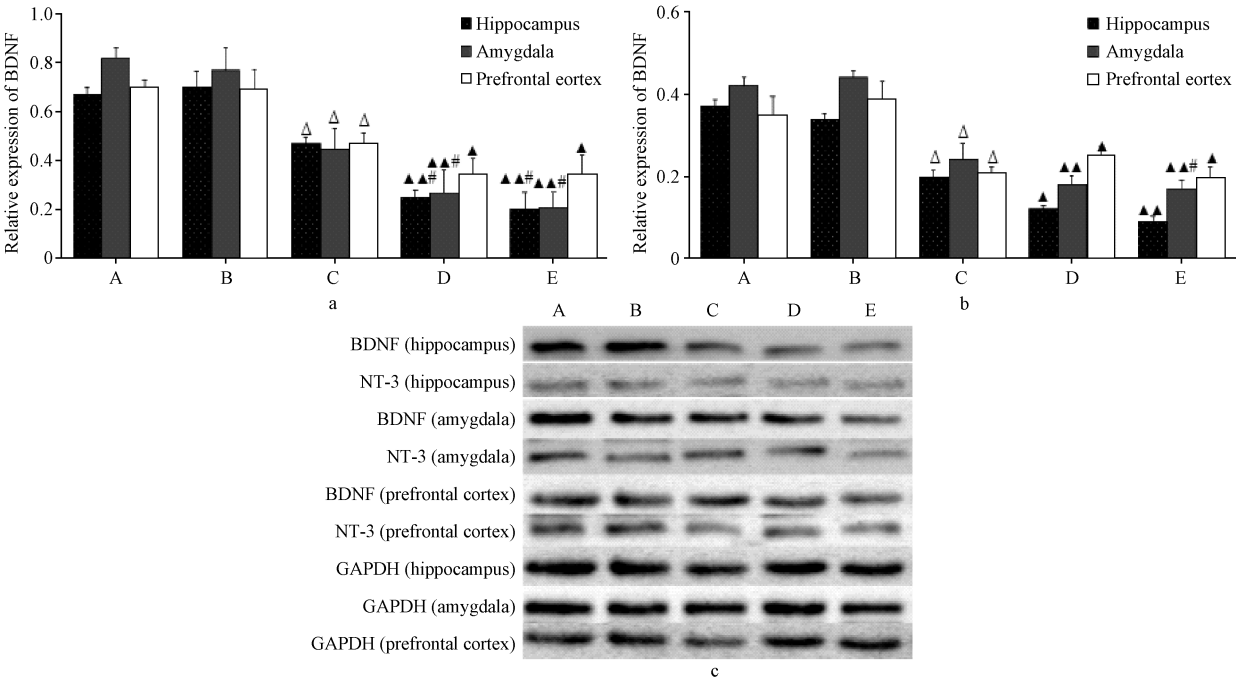
与对照组比较,各模型组大鼠海马、杏仁核、皮质中 BDNF、NT-3 含量均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与焦虑组比较,抑郁组、焦虑性抑郁组大鼠海马和杏仁核 BDNF 含量显著降低($P<0.05$),NT-3 表达差异不明显。此外,与抑郁组比较,焦虑性抑郁组大鼠海马、杏仁核、皮质中 BDNF、NT-3 表达水

平相当,差异均无显著性。结果见图 2。

3 讨论

焦虑性抑郁的发病机制涉及神经递质失调、下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA 轴)紊乱、大脑边缘系统损伤、神经营养缺乏等多方面^[7],是机体多因素紊乱造成的多表型的复合型精神类疾病,采用复合模型更能模拟该疾病的临床发病特点。本课题组前期通过对比不同的慢性心理应激造模方法以及不同的皮质酮浓度,确定 21 d 的慢性皮质酮注射(30 mg/kg)联合束缚 6 h 应激能成功建立焦虑性抑郁动物模型。本实验中,焦虑性抑郁模型组大鼠 OE%、OT% 及自主活动次数均显著少于对照组,与焦虑组测试结果相类似,说明其具有典型的焦虑样行为;同时焦虑性抑郁模型组大鼠的不动时间较对照组及焦虑组显著增加,抑郁样行为明显。综合行为学测试结果,说明本实验焦虑性抑郁大鼠模型建立成功。

海马、杏仁核和前额叶皮质是大脑边缘系统的三个关键区域,海马主要负责机体的学习与记忆,杏仁核是脑内主要的情绪加工区域,与情绪产生密切相关,前额叶皮质则主要负责感觉认知、执行功能、情绪调节等^[8]。同时,前额叶皮质的感觉认知和执行功能取决于它与其他边缘结构,如海马、杏仁核之间的相互作用。实际上,海马、杏仁核、前额叶皮质之间有着复杂的直接生理结构联系,相互协调作用共同调节情绪行为、学习记忆等心理活动,与焦虑症或抑郁症的产生均密切相关^[9-10]。因此,本研究以



注:a. BDNF 表达结果;b. NT-3 表达结果;c. BDNF、NT-3 蛋白表达图。A. 正常对照组;B. 溶媒对照组;C. 焦虑模型组;D. 抑郁模型组;E. 焦虑性抑郁模型组。与正常组比较 $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$,与溶媒组比较 $\blacktriangle P < 0.05$;与焦虑组比较 $\ast P < 0.05$ 。

图 2 各组大鼠海马、杏仁核、前额叶皮质部位 BDNF、NT-3 蛋白表达情况($n = 4$)

Note. a) BDNF protein levels. b) NT-3 protein levels. c) Patterns of BDNF, NT-3 protein expression. A: Control; B: Vehicle; C: Anxiety model; D: Depression model; E: Anxious depression model. $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$, *vs* the control group, $\blacktriangle P < 0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$, *vs* the vehicle group; $\# P < 0.05$, *vs* the anxiety model.

Fig.2 Expression of BDNF and NT-3 in the hippocampus, amygdala and prefrontal cortex of the rats($n = 4$)

海马、杏仁核和前额叶皮质为关键靶区,研究焦虑性抑郁状态下大鼠脑内单胺递质的含量变化以及神经营养的表达水平,探讨该疾病的部分发病机制。

脑内单胺类神经递质含量的改变在焦虑症及抑郁症的发病过程中均起着关键作用。研究发现,在抑郁大鼠血浆及大脑中,单胺类递质 5-HT、NE、DA 的含量均明显下降,而在焦虑大鼠其含量反而升高,临床研究也证明了此趋势^[11-12]。本实验研究发现,与对照组比较,焦虑性抑郁模型大鼠脑区单胺递质的变化趋势与抑郁大鼠类似,均表现出较明显的含量下降,具体表现为海马区的 5-HT 含量、杏仁核及前额叶皮质区的 5-HT 和 NE 含量显著下降。与抑郁模型组比较,海马区的 5-HT 和 NE、前额叶皮质区的 5-HT 和 DA 含量均显著上升,提示焦虑性抑郁模型比抑郁模型具有相对较高的单胺递质含量,其单胺能系统失衡情况与抑郁症比较具有一定差异。

神经营养因子家族是一类小分子多肽物质,具有调控神经元生存、轴突生长、突触可塑性及神经传递的作用^[13]。BDNF、NT-3 是神经营养因子家族的主要成员,它们具有调节神经细胞生长分化,促进神

经元存活、增殖及发育等功能,并对神经系统疾病及神经系统损伤后的再生和修复发挥重要作用^[14]。研究发现,BDNF、NT-3 的表达降低及功能下调会引起海马、皮质神经元发生形态及功能上的改变而参与抑郁症的发生发展^[15]。本实验发现,焦虑性抑郁模型大鼠海马、杏仁核和前额叶皮质部位的 BDNF、NT-3 表达均显著下降,与焦虑组比较,BDNF 在各部位的表达显著下降,与抑郁模型组比较,两者的表达无明显差异,提示焦虑性抑郁状态下存在明显的神经营养缺失情况,且该缺失情况较焦虑症更为严重。

综上所述,本研究发现焦虑性抑郁模型大鼠海马、杏仁核、前额叶皮质部位的 5-HT、NE、DA 及 BDNF、NT-3 含量均有明显的改变,说明脑内单胺递质失调和神经营养缺失对焦虑性抑郁疾病的发生发展具有重要作用,该研究结果对于进一步阐明该疾病的发病机制、筛选治疗药物提供了新的靶点和实验依据。但两种机制之间的内在联系以及更多的发病机制仍有待阐明。

参 考 文 献

[1] 吴志国, 吴彦, 方贻儒. 从“焦虑性抑郁症”概念解析抑郁障

- 碍的复杂性 [J]. 上海交通大学学报(医学版), 2014, 34(4): 450–454.
- [2] Ionescu DF, Niciu MJ, Mathews DC, et al. Neurobiology of anxious depression: a review [J]. *Depress Anxiety*, 2013, 30(4): 374–385.
- [3] Rosa, SG, Quines CB, Stangherlin EC, et al. Diphenyl diselenide ameliorates monosodium glutamate induced anxiety-like behavior in rats by modulating hippocampal BDNF-Akt pathway and uptake of GABA and serotonin neurotransmitters [J]. *Physiol Behav*, 2016, 155: 1–8.
- [4] Wang QS, Tian JS, Cui YL, et al. Genipin is active via modulating monoaminergic transmission and levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in rat model of depression [J]. *Neuroscience*, 2014, 275(5): 365–373.
- [5] 董宁, 唐启盛, 赵瑞珍, 等. 丹梔逍遥散对广泛性焦虑大鼠 Papez 环路内细胞凋亡的影响 [J]. 北京中医药大学学报, 2015, 38(2): 100–103.
- [6] Gregus A, Wintink AJ, Alicia C. Davis AC, et al. Effect of repeated corticosterone injections and restraint stress on anxiety and depression-like behavior in male rats [J]. *Behav Brain Res*, 2005, 156: 105–114.
- [7] Kokras N, Dalla C. Behavioral sexual dimorphism in models of anxiety and depression due to changes in HPA axis activity [J]. *Neuropharmacology*, 2012, 62(1): 436–445.
- [8] Tejeda HA, O'Donnell P. Amygdala inputs to the prefrontal cortex elicit heterosynaptic suppression of hippocampal inputs [J]. *J Neurosci*, 2014, 34(43): 14365–14374.
- [9] Albert PR, Fiori LM. Transcriptional Dys-regulation in anxiety and major depression: 5-HT1a gene promoter architecture as a therapeutic opportunity [J]. *Curr Pharm Design*, 2014, 20(23): 3738–3750.
- [10] Mandyam CD. The Interplay between the hippocampus and amygdala in regulating aberrant hippocampal neurogenesis during protracted abstinence from alcohol dependence [J]. *Front Psychiatry*, 2013, 27(4): 61–69.
- [11] Xu J, Xu H, Liu Y, et al. Vanillin-induced amelioration of depression-like behaviors in rats by modulating monoamine neurotransmitters in the brain [J]. *Psychiatry Res*, 2015, 225(3): 509–514.
- [12] Gomez JL, Lewis MJ, Sebastian V, et al. Alcohol administration blocks stress-induced impairments in memory and anxiety, and alters hippocampal neurotransmitter receptor expression in male rats [J]. *Horm Behav*, 2013, 63(4): 659–666.
- [13] Siniscalco D, Giordano C, Rossi F, et al. Role of neurotrophins in neuropathic pain [J]. *Current Neuropharmacol*, 2011, 9(4): 523–529.
- [14] 王建平, 刘聪, 杨直堂, 等. 白藜芦醇对脑缺血小鼠 BDNF 及 NT-3 表达的影响 [J]. 中国药理学通报, 2012, 28(4): 531–535.
- [15] Jiang P, Dang RL, Li HD, etc. The impacts of swimming exercise on hippocampal expression of neurotrophic factors in rats exposed to chronic unpredictable mild stress [J]. *Evidence-based Compl Altern Med*, 2014: 729827.

[收稿日期] 2016–12–21

(上接第 372 页)

- [11] Tao L, Gao E, Jiao X, et al. Adiponectin cardioprotection after myocardial ischemia/reperfusion involves the reduction of oxidative/nitrative stress [J]. *Circulation*, 2007, 115(11): 1408–1416.
- [12] Kambara T, Ohashi K, Shibata R, et al. CTRP9 protein protects against myocardial injury following ischemia-reperfusion through AMP-activated protein kinase (AMPK) – dependent mechanism [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(23): 18965–18973.
- [13] Yu L, Sun Y, Cheng L, et al. Melatonin receptor-mediated protection against myocardial ischemia/reperfusion injury: role of SIRT1 [J]. *J Pineal Res*, 2014, 57(2): 228–238.
- [14] Yi W., Sun Y, Yuan Y, et al. C1q/tumor necrosis factor-related protein-3, a newly identified adipokine, is a novel antiapoptotic, proangiogenic, and cardioprotective molecule in the ischemic mouse heart [J]. *Circulation*, 2012, 125(25): 3159–3169.
- [15] Liang H, Hou H, Yi W, et al. Increased expression of pigment epithelium-derived factor in aged mesenchymal stem cells impairs their therapeutic efficacy for attenuating myocardial infarction injury [J]. *Eur Heart J*, 2013, 34(22): 1681–1690.
- [16] Yu L, Liang H, Dong X, et al. Reduced silent information regulator 1 signaling exacerbates myocardial ischemia-reperfusion injury in type 2 diabetic rats and the protective effect of melatonin [J]. *J Pineal Res*, 2015, 59(3): 376–390.

[收稿日期] 2017–05–30