

孕酮对皮质酮诱导的 PC12 抑郁症细胞模型的保护作用

张冉冉^{1,2}, 张春月¹, 刘 畅¹, 吴志刚^{1*}

1. 河北北方学院药学院 河北省神经药理学重点实验室, 河北 张家口 075000

2. 河北燕达医院, 河北 廊坊 065201

摘要: **目的** 探讨孕酮对皮质酮诱导的 PC12 抑郁症细胞模型的保护作用及其潜在机制。**方法** CCK-8 法检测细胞存活率筛选皮质酮 (100、200、300、400、500、600 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 作用于 PC12 细胞构建抑郁症细胞模型; 造模后, CCK-8 法筛选孕酮 (1、5、10、20、40、60、80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的治疗浓度; 同时设定孕酮核受体 (nPR) 特异性抑制剂 RU486 和孕酮受体膜组分 1 (PGRMC1) 特异性抑制剂 AG205 联合孕酮 (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 处理组, 加药后孵育 36 h。流式细胞术检测凋亡情况; DCFH-DA 探针法测定细胞内活性氧 (ROS) 水平; 钙离子荧光探针 Fluo-4 AM 法测定钙离子浓度; 试剂盒法检测乳酸脱氢酶 (LDH) 释放情况; JC-1 探针法检测线粒体膜电位, 并采用 Western blotting 法分析凋亡相关蛋白的表达。**结果** PC12 抑郁症细胞模型采用皮质酮 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 制备, 孕酮 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 作用效果较好; 与模型组相比, 孕酮显著降低细胞内 ROS 水平和钙离子浓度 ($P<0.01$), 减少 LDH 释放以及稳定线粒体膜电位 ($P<0.01$), 提高 Bcl-2 蛋白的表达 ($P<0.01$), 降低 Bax、Cyt C、Caspase-3 蛋白的表达 ($P<0.05$), 从而减少细胞凋亡 ($P<0.01$), 提升细胞活力 ($P<0.01$); 且 RU486 和 AG205 均能抑制孕酮对抑郁症细胞模型的保护作用 ($P<0.05$ 、0.01)。**结论** 孕酮能通过 nPR 以及 PGRMC1 减轻皮质酮诱导的 PC12 抑郁症细胞模型氧化应激反应以及细胞内钙超载, 进而发挥神经保护作用。

关键词: 抑郁症; 孕酮; 皮质酮; 线粒体; 凋亡; 钙超载

中图分类号: R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2025)10-2853-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.10.013

Protective effects of progesterone on corticosterone-induced PC12 cells model of depression

ZHANG Ranran^{1,2}, ZHANG Chunyue¹, LIU Chang¹, WU Zhigang¹

1. Hebei Key Laboratory of Neuropharmacology, College of Pharmacy, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China

2. Hebei Yanda Hospital, Langfang 065201, China

Abstract: Objective To explore the protective effect of progesterone on the corticosterone-induced PC12 depression cell model and its potential mechanism. **Methods** The CCK8 method was used to detect cell viability to screen the concentration of corticosterone (100, 200, 300, 400, 500, 600 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) for the construction of the depression cell model in PC12 cells; After modeling, the CCK8 method was used to screen the therapeutic concentration of progesterone (1, 5, 10, 20, 40, 60, 80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$); At the same time, the progesterone nuclear receptor (nPR) specific inhibitor RU486 and the progesterone receptor membrane component 1 (PGRMC1) specific inhibitor AG205 combined with progesterone (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) treatment groups were set up, and the cells were incubated for 36 h after drug addition. Apoptosis was detected by flow cytometry; intracellular reactive oxygen species (ROS) levels were detected by the DCFH-DA probe method, intracellular calcium ion concentration was detected by the calcium ion fluorescent probe Fluo-4 AM method; lactate dehydrogenase (LDH) release was detected by the kit method, and mitochondrial membrane potential was detected by the JC-1 probe method, and the expression of apoptosis-related proteins was analyzed by Western blotting. **Results** The PC12 depression cell model was prepared with 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ corticosterone, and 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ progesterone had a better effect; Compared with the model group, progesterone significantly reduced intracellular ROS levels and calcium ion concentration ($P<0.01$), reduced

收稿日期: 2025-04-18

基金项目: 河北省省属高校基本科研业务费自然科学基金计划项目 (JYT2021001); 河北省研究生创新资助项目 (CXZZSS2024129); 河北北方学院校级科研项目 (XJ2023034)

作者简介: 张冉冉 (1999—), 女, 硕士研究生, 研究方向为神经药理学。E-mail: zhangranran202209@163.com

*通信作者: 吴志刚 (1982—), 男, 博士, 副教授, 研究方向为神经药理学。E-mail: wuzhigang1982@126.com

LDH release and stabilized mitochondrial membrane potential ($P < 0.01$), increased the expression of Bcl-2 protein ($P < 0.01$), decreased the expression of Bax, Cyt C, and Caspase-3 proteins ($P < 0.05$), thereby reducing cell apoptosis ($P < 0.01$) and enhancing cell viability ($P < 0.01$); and both RU486 and AG205 could inhibit the protective effect of progesterone on the depression cell model ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** Progesterone exerts neuroprotective effects by alleviating CORT-induced oxidative stress and intracellular calcium overload in the PC12 depression cell model through nPR and PGRMC1 pathways.

Key words: depression; progesterone; corticosterone; mitochondria; apoptosis; calcium overload

抑郁症作为一种常见的心理障碍,其发病机制复杂,与社会因素、环境影响密切相关。根据 2024 年中国疾病预防控制中心研究,抑郁症显著提高死亡风险,已成为致残的主要原因之一,严重威胁人类健康^[1]。研究发现,慢性心理压力,尤其是持续的负面情绪状态,会导致神经元线粒体功能障碍以及神经元损伤^[2],进而产生焦虑、抑郁等精神症状^[3]。在抑郁症各种模型的研究中,编码线粒体蛋白的基因表达受损、线粒体代谢活性降低、氧化应激升高以及线粒体结构氧化等现象频繁出现^[4],提示神经元线粒体功能障碍在抑郁症的发生中起到关键作用。

孕酮作为关键的神经类固醇,除参与生殖调节外,其神经系统保护作用日益受到关注,尤其在神经元线粒体保护方面展现出重要价值,为多种神经系统疾病提供了潜在治疗策略^[5]。例如,在缺血性脑卒中模型中,孕酮通过阻断线粒体通透性转换孔(mPTP)、提升线粒体膜电位及增强脑线粒体能量代谢发挥神经保护作用^[6-7];而在 β -淀粉样蛋白($A\beta_{25-35}$)损伤的原代大鼠神经元模型中,孕酮通过抑制 Toll 样受体 4(TLR4)/髓样分化因子 88(MyD88)/核转录因子- κ B(NF- κ B)炎症通路并调控 Bax/Bcl-2 凋亡通路,为阿尔茨海默病治疗开辟新靶点^[8]。值得注意的是,近期研究在小脑浦肯野细胞模型中发现,孕酮可显著上调 T 型钙通道(*Cav3.1/Cav3.3*)及蛋白激酶 A/C 的 mRNA 表达,从钙信号通路角度为孕酮调控神经可塑性的机制提供了新证据^[9]。

本研究通过皮质酮诱导低分化 PC12 细胞构建抑郁症模型,探讨孕酮对抑郁症的保护作用及机制,以为抑郁症的研究提供新的视角,也为抑郁症的临床治疗提供新的思路与方法。

1 材料

1.1 药品与主要试剂

皮质酮(批号 A2329595,质量分数 99%)、孕酮(批号 C2331037,质量分数 99%)购自上海阿拉

丁试剂有限公司;孕酮受体膜组分 1(PGRMC1)特异性抑制剂 AG205(批号 A1487)购自 Sigma 公司;孕酮核受体(nPR)特异性抑制剂 RU486(批号 GC11637)购自 Glpbio 公司;CCK-8 细胞增殖检测试剂盒(批号 BS030A)购自上海圣尔生物科技有限公司;Annexin V-PE 细胞凋亡检测试剂盒(批号 C1065S)、乳酸脱氢酶(LDH)细胞毒性检测试剂盒(批号 C0016)、活性氧(ROS)检测试剂盒(批号 S0033S)、线粒体膜电位检测试剂盒(JC-1)(批号 C2006)均购自上海碧云天生物技术有限公司;Bcl-2 抗体(批号 F921511)、Bax 抗体(批号 F106507)、细胞色素 C(Cyt c)抗体(批号 F092301)、Goat Anti-Rabbit IgG (H+L) HRP(批号 F300405)均购自 Abways 公司;Caspase-3 抗体(批号 A2156)、 β -actin 抗体(批号 AC028)均购自 ABclonal 公司。

1.2 主要仪器

Cytation5 细胞成像微孔板检测仪,购自 BioTek 公司;Moxi Flow 流式细胞仪,购自 ORFLO 公司;FV 3000 共聚焦激光扫描显微镜,购自奥林巴斯公司。

1.3 细胞

大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤(PC12)细胞(低分化),购自武汉普诺赛生命科技有限公司。使用 RPMI 1640 培养基培养低分化 PC12 细胞,同时,添加 10% 胎牛血清、1% 的青霉素和链霉素到培养基中,选取处于对数生长期的细胞作为实验对象。

2 方法

2.1 细胞活力测定

将处于对数增长期的低分化 PC12 细胞以每孔 1×10^4 个的密度接种至 96 孔板中,添加 100 μ L 完全培养基,培养 24 h 后,舍弃培养基。为了筛选出合适的造模浓度,设置对照组、DMSO(溶剂对照)组和皮质酮 100、200、300、400、500、600 μ mol $\cdot$ L⁻¹[10]组;为了探究孕酮对细胞活力的影响,设置对照组、模型组和孕酮 1、5、10、20、40、60、80 μ mol $\cdot$ L⁻¹组;为了探究 AG205 和 RU486 对 PC12 细胞活力

的影响,设置对照组、模型组(皮质酮 $30\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、孕酮($10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组、孕酮($10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)+AG205($10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组、孕酮+RU486($10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组;另设不接种细胞的空白组,皮质酮与孕酮、AG205、RU486 同时给药,继续培养 36 h,每组设 6 个复孔,按照 CCK-8 试剂盒操作,检测 450 nm 处吸光度(A)值,计算细胞存活率。

$$\text{细胞存活率} = (A_{\text{实验}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

2.2 细胞凋亡实验

采用 Annexin V-PE 单染法检测 PC12 细胞的凋亡率。将处于对数生长期的细胞以每孔 6×10^4 个接种于 24 孔板,每孔加入 100 μL 培养液,培养 24 h 后,设置对照组、模型组(皮质酮 $30\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、孕酮($10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组、孕酮($10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)+AG205($10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组、孕酮+RU486($10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组,处理方式同“2.1”项,孵育 36 h,按照凋亡试剂盒操作,流式细胞仪上机检测。

2.3 LDH 释放实验

LDH 的活性水平是细胞膜分解和细胞死亡的标志之一,可以间接反映细胞受损的程度。将处于对数生长期的细胞以每孔 1×10^4 个接种于 96 孔板,每孔加入 100 μL 完全培养基,培养 24 h 后,分为对照组、模型组、孕酮($10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组,处理方式同“2.1”项,加药继续培养 36 h,使用 LDH 检测试剂盒检测 LDH 释放水平。

2.4 钙离子(Ca^{2+})水平检测

钙离子荧光探针 Fluo-4 AM 测定细胞内的钙离子浓度。将处于对数生长期的细胞以 1.5×10^5 个的密度接种到 20 mm 激光共聚焦专用的细胞培养皿中,细胞分组及处理操作同“2.2”项,按照试剂盒说明操作,用 Image J 软件分析激光共聚焦显微镜拍照的结果,通过对比对照组与实验组的荧光值,得出钙离子浓度的变化。

2.5 ROS 检测

用 DCFH-DA 探针检测细胞内 ROS 水平。将处于对数生长期的细胞以 1.5×10^5 个的密度接种到 20 mm 激光共聚焦专用的细胞培养皿中,细胞分组及处理操作同“2.2”项,去除细胞培养液,按照试剂盒说明操作,用激光共聚焦显微镜检测。

2.6 线粒体膜电位的测量

JC-1 探针检测线粒体膜电位状态变化。将处于对数生长期的细胞以 1.5×10^5 个的密度接种到

20 mm 激光共聚焦专用的细胞培养皿中,细胞分组及处理操作同“2.2”项,按照试剂盒的使用说明书进行后续操作,用激光共聚焦显微镜检测,绿色荧光表示 JC-1 呈现单体形式,而红色荧光表示 JC-1 呈现聚集体形式,计算红色和绿色荧光的相对比例评估线粒体膜电位的变化。

2.7 Western blotting 实验

将对数生长期的细胞以 4×10^6 个接种到 100 mm 细胞培养皿中,细胞分组及处理操作同“2.3”项,各组处理完毕后收集细胞放入离心管中,离心后去除上清液。加入 200 μL RIPA 裂解液,充分吹打,以 $7\ 267\times g$ 离心 30 min,按照 BCA 法测定蛋白浓度,用蛋白上样缓冲液及裂解液将各组浓度定在同一水平;然后将每孔的蛋白上样量调至 20 μg 后电泳分离,用湿转法转膜,一抗孵育,洗膜,二抗孵育,洗膜,显影,使用 Image J 软件分析结果。

2.8 统计学分析

实验数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,统计分析采用 GraphPad Prism 8.0.1 软件进行处理,多组间比较采用单因素方差分析,组间数据的差异比较采用 Dunnett- t 检验。

3 结果

3.1 皮质酮对 PC12 细胞活力的影响

如图 1 所示,与对照组比较,皮质酮作用于 PC12 细胞 36 h 时,100、200、300、400、500、600 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的皮质酮使 PC12 细胞活力显著下降($P<0.01$)。其中,300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的皮质酮处理 PC12 细胞 36 h 后,细胞活力下降为 52.27%。

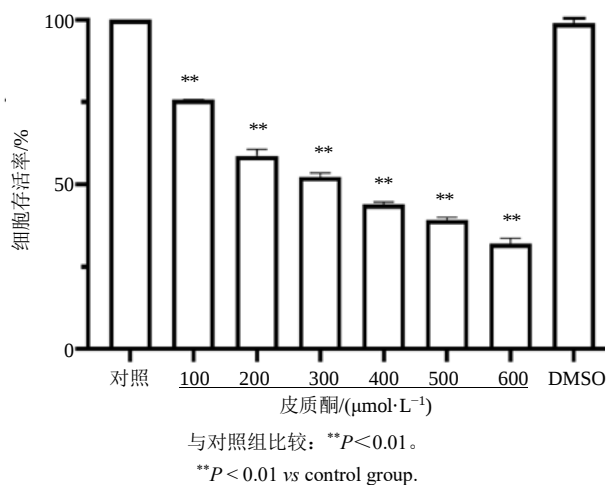


图 1 皮质酮对 PC12 细胞活力的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Fig. 1 Effect of CORT on PC12 cell viability ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

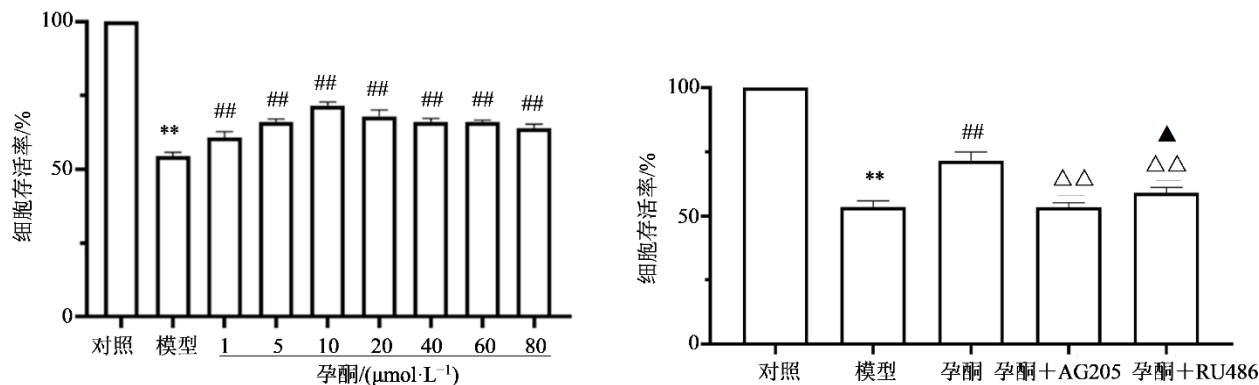
3.2 孕酮对皮质酮诱导的 PC12 抑郁症细胞模型细胞活力的影响

使用 CCK-8 法评估孕酮对皮质酮诱导的 PC12 细胞的保护作用。与对照组比较,模型组的 PC12 细胞活力显著降低为 54.43% ($P<0.01$);与模型组比较,1、5、10、20、40、60、80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的孕酮能显著提高细胞活力 ($P<0.01$),确定后续实验使用 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的孕酮;与孕酮组比较,孕酮+

AG205 组和孕酮+RU486 组的细胞存活率显著下降 ($P<0.01$)。孕酮+AG205 组与孕酮+RU486 组比较,AG205 细胞存活率下降了 5.68% ($P<0.05$)。结果见图 2。

3.3 孕酮对皮质酮诱导的 PC12 细胞凋亡的影响

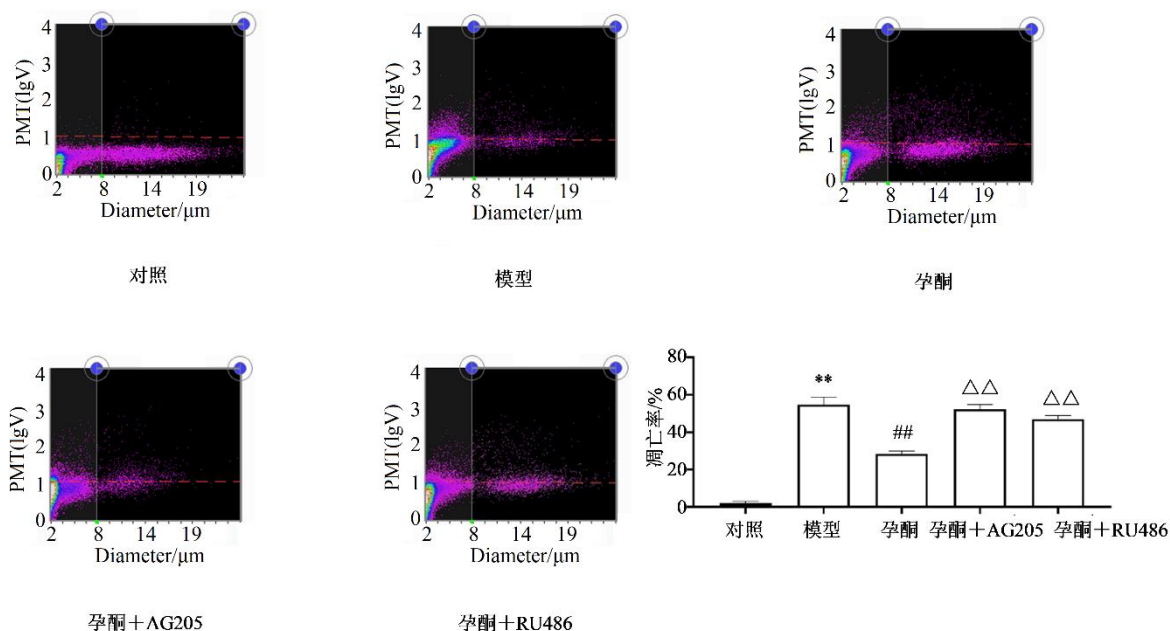
使用流式细胞仪通过 Annexin V-PE 染色来确定孕酮对皮质酮处理细胞的抗凋亡作用。图 3 结果显示,与对照组相比较,模型组细胞凋亡率升高为



与对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: ## $P<0.01$; 与孕酮组比较: $\Delta\Delta P<0.01$; 与孕酮+AG205 组比较: $\Delta P<0.05$ 。
 ** $P<0.01$ vs control group; ## $P<0.01$ vs model group; $\Delta\Delta P<0.01$ vs progesterone group; $\Delta P<0.05$ vs progesterone + AG205 group.

图 2 孕酮对细胞存活率的影响 ($\bar{X} \pm s, n=5$)

Fig. 2 Effect of progesterone on cell survival rate ($\bar{X} \pm s, n=5$)



与对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: ## $P<0.01$; 与孕酮组比较: $\Delta\Delta P<0.01$ 。
 ** $P<0.01$ vs control group; ## $P<0.01$ vs model group; $\Delta\Delta P<0.01$ vs progesterone group.

图 3 孕酮对细胞凋亡的影响 ($\bar{X} \pm s, n=3$)

Fig. 3 Effect of progesterone on cell apoptosis ($\bar{X} \pm s, n=3$)

54.7% ($P < 0.01$); 与模型组比较, 孕酮组细胞凋亡率降低为 26.2% ($P < 0.01$), 说明孕酮能抑制皮质酮诱导的 PC12 细胞凋亡; 与孕酮组比较, 孕酮 + AG205 组和孕酮 + RU486 组细胞凋亡率升高 ($P < 0.01$)。结果表明, AG205 和 RU486 显著抑制孕酮的抗凋亡作用。

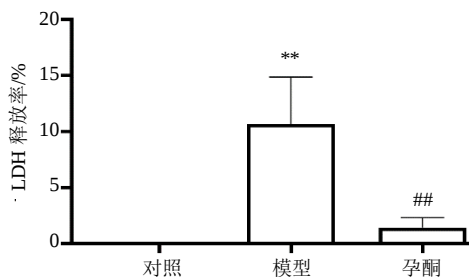
3.4 孕酮对皮质酮诱导的 PC12 抑郁症细胞模型 LDH 渗出的影响

与对照组比较, $300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的皮质酮显著提高 PC12 细胞 LDH 释放量 ($P < 0.01$); 与模型组比较, $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的孕酮处理细胞 36 h 后, LDH 释放量显著降低 ($P < 0.01$), 见图 4。

3.5 孕酮对皮质酮诱导的 PC12 抑郁症细胞模型细胞内 Ca^{2+} 浓度的影响

如图 5 所示, 与对照组比较, 模型组细胞内 Ca^{2+} 水平显著升高 ($P < 0.01$), 与模型组比较, 孕酮组 Ca^{2+} 水平显著降低 ($P < 0.01$), 说明孕酮可以抑制皮质酮

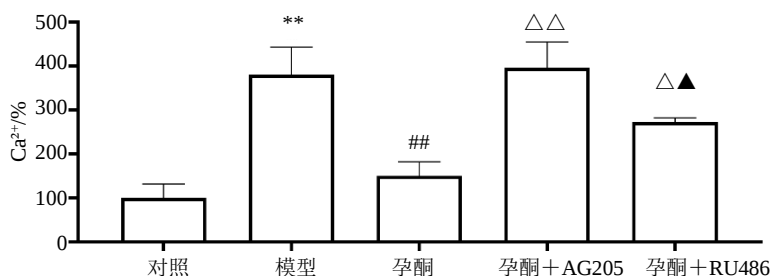
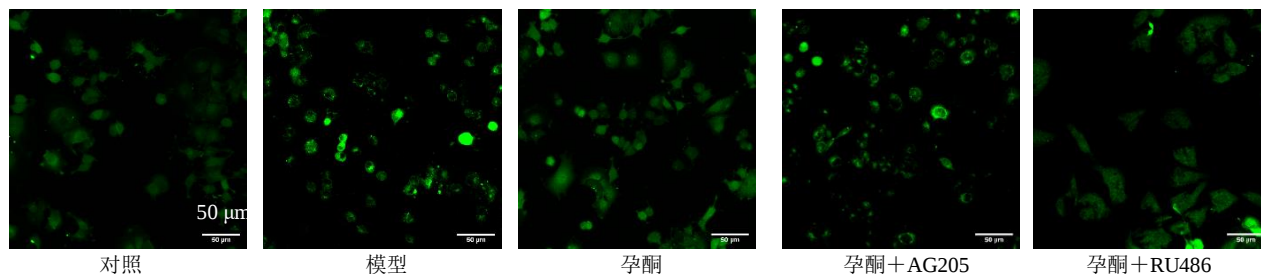
诱导的 PC12 细胞 Ca^{2+} 水平升高; 与孕酮组比较, 孕酮 + AG205 组和孕酮 + RU486 组细胞 Ca^{2+} 水平显著升高 ($P < 0.01$), 结果表明, $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 AG205 和 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 RU486 显著抑制孕酮对 Ca^{2+} 水平



与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$ 。
** $P < 0.01$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs model group.

图 4 孕酮对皮质酮诱导的 PC12 细胞 LDH 释放量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 4 Effect of progesterone on LDH release in PC12 cells induced by CORT ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)



与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$; 与孕酮组比较: △△ $P < 0.01$; 与孕酮 + AG205 组比较: ▲ $P < 0.05$ 。
** $P < 0.01$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs model group; △△ $P < 0.01$ vs progesterone group; ▲ $P < 0.05$ vs progesterone + AG205 group.

图 5 孕酮对 PC12 细胞 Ca^{2+} 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

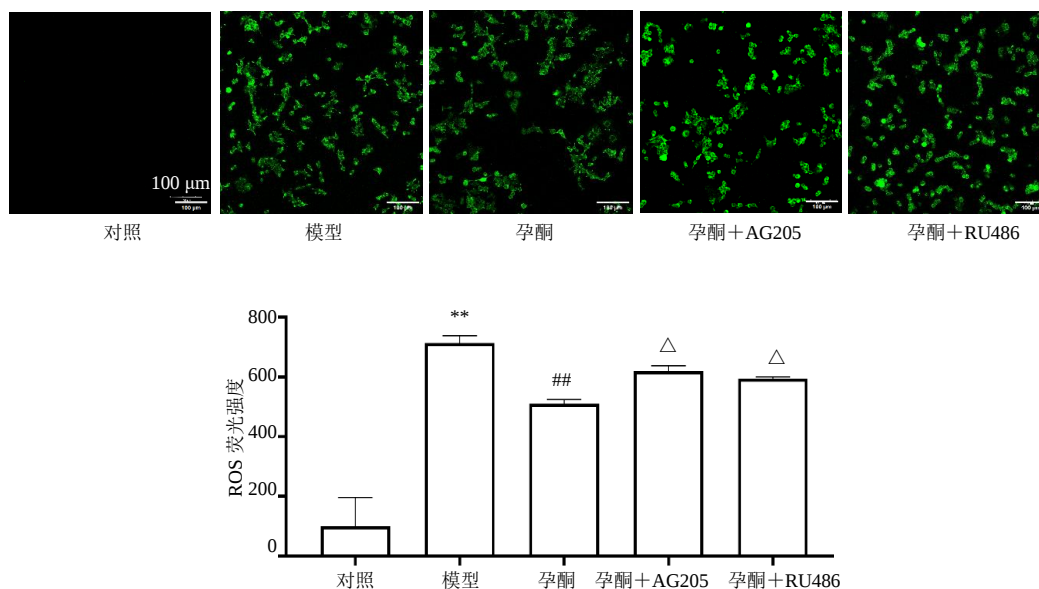
Fig. 5 Effect of progesterone on Ca^{2+} in PC12 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

的调控作用, 且对比加入 2 个抑制剂后的 Ca^{2+} 水平, AG205 的抑制作用更强 ($P < 0.05$)。

3.6 孕酮对皮质酮诱导的 PC12 抑郁症细胞模型 ROS 水平的影响

如图 6 所示, 与对照组相比较, 模型组绿色荧

光增强, ROS 水平显著提高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 孕酮组细胞的绿色荧光强度减弱, ROS 水平显著降低 ($P < 0.01$), 说明孕酮能够抑制皮质酮诱导 PC12 细胞 ROS 水平升高; 与孕酮组比较, 孕酮 + AG205 组和孕酮 + RU486 组细胞 ROS 水平升高



与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$; 与孕酮组比较: △ $P < 0.05$ 。

** $P < 0.01$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs model group; △ $P < 0.05$ vs progesterone group.

图 6 孕酮对皮质酮诱导的 PC12 细胞 ROS 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 6 Effect of progesterone on ROS in PC12 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

($P < 0.05$), 结果表明, AG205 和 RU486 显著抑制孕酮对 ROS 水平的调控作用。

3.7 孕酮对皮质酮诱导的 PC12 抑郁症细胞模型线粒体膜电位的影响

如图 7 所示, 与对照组相比较, 模型组红/绿荧光强度比明显降低了 37.3% ($P < 0.01$), 线粒体膜电位显著下降; 与模型组比较, 孕酮组细胞红/绿荧光强度比明显增加了 20.7% ($P < 0.01$), 线粒体膜电位显著升高, 说明孕酮可以改善皮质酮导致的 PC12 细胞线粒体膜电位下降; 与孕酮组比较, 孕酮+AG205 组和孕酮+RU486 组细胞线粒体膜电位水平降低 ($P < 0.01$)。结果表明, AG205 和 RU486 显著抑制孕酮升高线粒体膜电位作用。

3.8 孕酮对皮质酮诱导的 PC12 抑郁症细胞模型凋亡相关蛋白表达的影响

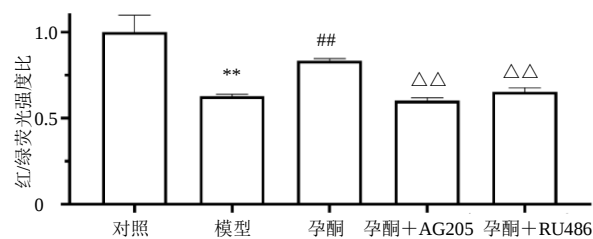
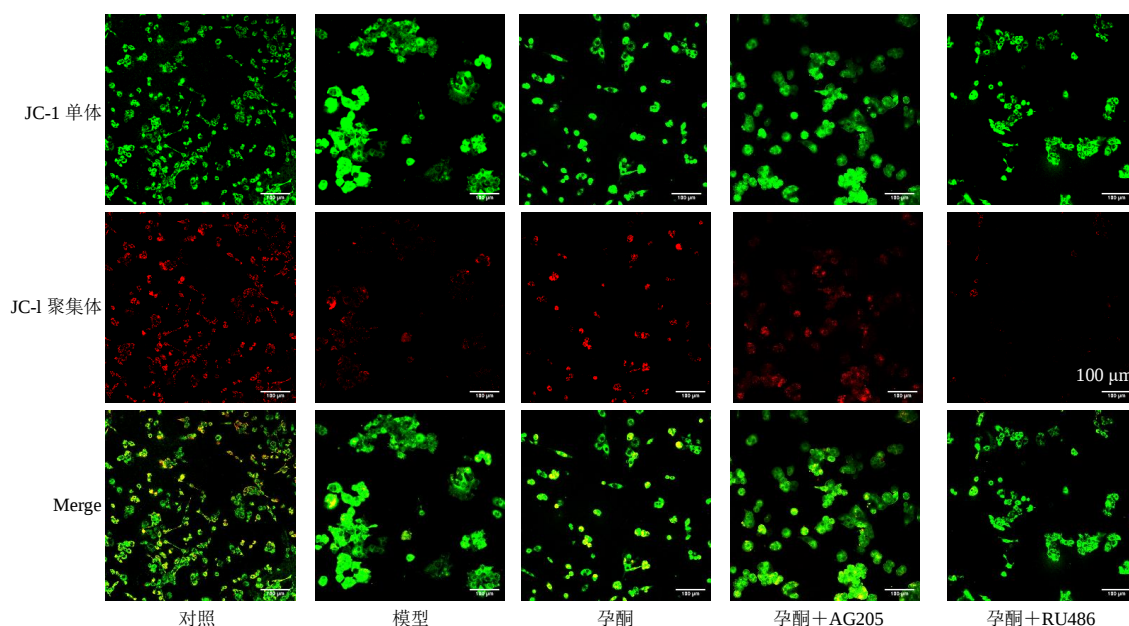
如图 8 所示, 与对照组比较, 模型组的 Bax、Cyt c、Caspase-3 蛋白表达水平明显升高, Bcl-2 蛋白表达水平明显降低 ($P < 0.05$ 、0.01); 与模型组比较, 孕酮组明显降低了 Bax、Cyt c、Caspase-3 蛋白表达, 提高了 Bcl-2 蛋白表达水平 ($P < 0.05$)。

4 讨论

研究发现, 抑郁症患者往往表现出不同程度的下丘脑-垂体-肾上腺 (HPA) 轴功能异常。持续性的

心理压力能够激活 HPA 轴^[11], 而长时间亢进的 HPA 轴会增加皮质酮的分泌^[12]。同时, 若在动物体内注射过量皮质酮也会导致 HPA 轴失调, 并诱发抑郁样行为^[13]。进一步研究表明, 皮质酮会诱导增加神经细胞内 ROS 产生, 引发氧化应激反应, 激活线粒体凋亡信号通路。同时皮质酮还会通过激活 L 型钙通道引起钙离子内流增加、作用于钙库释放钙离子以及影响细胞内钙泵活性, 减少细胞内钙离子外排等作用, 使神经元细胞内 Ca^{2+} 的水平异常升高, 进一步加剧神经元凋亡, 导致神经元损伤而促进抑郁症的发生^[14]。PC12 细胞具有神经元的典型特征^[15], 且表达大量糖皮质激素受体。根据代谢组学研究, 低分化 PC12 细胞在 3 种分化类型 (未分化、低分化和高分化) 的细胞中与抑郁相关的靶蛋白数量最多, 被认为是最适合用于抑郁症研究的细胞^[16]。利用皮质酮诱导低分化 PC12 细胞构建抑郁症细胞模型, 成为研究抑郁症分子机制的重要模型^[17]。

线粒体功能障碍在皮质酮诱导 PC12 细胞损伤过程中起到关键作用。皮质酮使 PC12 细胞内 ROS 增多, 引发氧化应激反应, 使凋亡相关蛋白表达异常。促凋亡蛋白 Bax 会发生构象变化和寡聚化, 从细胞质转位到线粒体膜上, 插入线粒体膜并形成通道, 导致线粒体膜通透性增加, 线粒体膜稳定性被

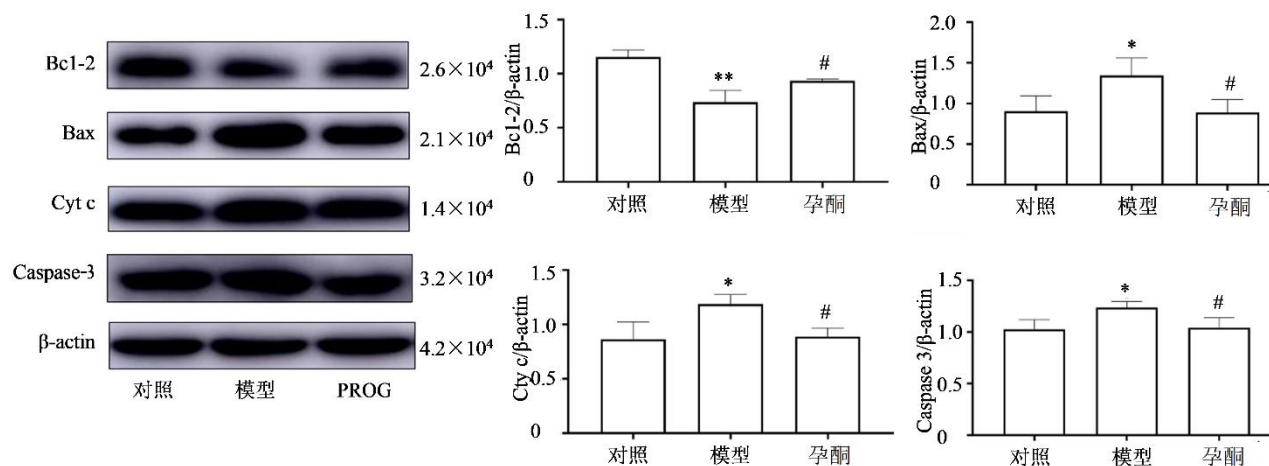


与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$; 与孕酮组比较: $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs model group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs progesterone group.

图 7 孕酮对皮质酮诱导的 PC12 细胞线粒体膜电位的影响 ($\bar{X} \pm s$, $n=3$)

Fig. 7 Effect of progesterone on mitochondrial membrane potential induced by CORT in PC12 cells ($\bar{X} \pm s$, $n=3$)



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ 。

** $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group.

图 8 孕酮对细胞凋亡相关蛋白表达的影响 ($\bar{X} \pm s$, $n=3$)

Fig. 8 Effect of progesterone on expression of apoptosis related proteins ($\bar{X} \pm s$, $n=3$)

破坏,膜电位降低,之后 Cyt c 从线粒体释放到细胞质进一步激活 Caspase-3,发生半胱天冬酶级联反应,最终导致细胞凋亡^[18-20]。已有研究报道,孕酮可抑制 ATP 诱导的胞内 Ca^{2+} 升高,降低细胞死亡率,明显减轻高浓度 ATP 对 SH-SY5Y 细胞的损伤作用^[21]。本研究同样发现,孕酮显著降低细胞内 ROS 水平,抑制 PC12 细胞氧化应激反应,降低凋亡相关蛋白的表达,从而抑制线粒体凋亡信号通路的激活。同时发现孕酮还能降低模型细胞内 Ca^{2+} 水平,纠正细胞内 Ca^{2+} 超载状态,进一步发挥保护作用,具体表现为细胞内 LDH 释放减少,线粒体膜电位升高,细胞凋亡减少,活力增强。

传统研究认为孕酮主要是通过 nPR 发挥作用,nPR 作为一种转录因子,在脑中广泛表达,可与位于基因启动子区域的孕酮反应元件的特定 DNA 序列结合,改变神经发育的基本过程^[22]。近来 PGRMC1 作为孕激素受体膜成分中的一种衔接蛋白受到广泛关注^[23]。研究发现 PGRMC1 通过向质膜运输其他跨膜受体并与之相互作用,直接参与细胞信号传导^[24],PGRMC1 通过调节 ERK 信号来调节细胞内钙水平并提高脑源性神经营养因子(BDNF)水平,还与高尔基体、内质网和线粒体相关^[25-26],已被确定为中枢神经系统神经保护的潜在靶点^[27-28]。本研究首次系统比较了孕酮通过 nPR 和 PGRMC1 两条途径发挥神经保护作用的差异。利用 nPR 阻断剂 RU486 以及 PGRMC1 阻断剂 AG205 处理细胞,发现 RU486 和 AG205 均能抑制孕酮对皮质酮诱导的 PC12 抑郁症细胞模型的保护作用,结果显示,虽然 nPR 和 PGRMC1 均参与介导孕酮的保护作用,但 PGRMC1 的作用更为显著。这一发现与 PGRMC1 的多重功能相符,包括调节 ERK 信号通路、维持钙稳态、提高 BDNF 水平等^[25]。

值得注意的是,孕酮可能通过 nPR 和 PGRMC1 的协同作用发挥最佳保护效果。众多研究表明,孕酮的作用通常是一种多靶点的共同效应,涉及基因效应与非基因效应。通常 PGRMC1 介导非基因效应,快速发挥作用,而 nPR 通过调控蛋白表达发挥基因效应。例如有研究报道,孕酮膜受体介导孕酮对黏附焦点信号通路的短期抑制作用,而 nPR 介导长期抑制作用,引起血管平滑肌细胞松弛^[29]。另外,在胰腺神经内分泌肿瘤中,孕酮通过 nPR 和膜受体的协同作用调节细胞周期和增殖,其中孕酮可通过

nPR 抑制细胞周期进程,膜受体发挥抗增殖作用^[30]。本研究同样发现 nPR 和 PGRMC1 二者共同保护 PC12 细胞免于皮质酮引发的氧化应激反应对细胞的损伤。

本研究结果证实孕酮能通过 nPR 和 PGRMC1 减轻皮质酮引起的氧化应激对 PC12 抑郁症细胞模型的损伤,且 PGRMC1 介导的作用较强。然而,本研究所采用的 PC12 细胞系未能完全模拟神经元细胞的复杂特性,未来的研究应侧重于动物模型和临床验证,更全面地评估孕酮在预防或治疗精神疾病中的潜在益处。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Wang J F, Zhao Z P, Yang J, et al. The association between depression and all-cause, cause-specific mortality in the Chinese population-China, 2010-2022 [J]. China CDC Wkly, 2024, 6(40): 1022-1027.
- [2] Trumpff C, Monzel A S, Sandi C, et al. Psychosocial experiences are associated with human brain mitochondrial biology [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2024, 121(27): e2317673121.
- [3] Xu H D, Xing S R, Lei X, et al. A famous Chinese medicine formula: Yinhuo decoction antagonizes the damage of corticosterone to PC12 cells and improves depression by regulating the SIRT1/PGC-1 α pathway [J]. Biomed Res Int, 2022, 2022: 3714857.
- [4] Khan M, Baussan Y, Hebert-Chatelain E. Connecting dots between mitochondrial dysfunction and depression [J]. Biomolecules, 2023, 13(4): 695.
- [5] Lee M T, McNicholas R, Miall L, et al. Progesterone as a neuroprotective agent in neonatal hypoxic-ischaemic encephalopathy: A systematic review [J]. Dev Neurosci, 2023, 45(2): 76-93.
- [6] Andrabi S S, Parvez S, Tabassum H. Progesterone induces neuroprotection following reperfusion-promoted mitochondrial dysfunction after focal cerebral ischemia in rats [J]. Dis Model Mech, 2017, 10(6): 787-796.
- [7] Gaignard P, Fréchou M, Schumacher M, et al. Progesterone reduces brain mitochondrial dysfunction after transient focal ischemia in male and female mice [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2016, 36(3): 562-568.
- [8] 吴志刚. 基于蛋白质组学研究 PGRMC1 介导孕酮对

- Aβ25-35 所致神经元损伤的保护作用机制 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2019.
- Wu Z G. To study the protective mechanism of PGRMC1-mediated progesterone on neuron injury induced by Aβ25-35 based on protein omics [D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University, 2019.
- [9] Eickhoff A, Tjaden J, Stahlke S, et al. Effects of progesterone on T-type-Ca²⁺-channel expression in Purkinje cells [J]. *Neural Regen Res*, 2022, 17(11): 2465-2471.
- [10] 赵慧亮, 高耀, 向欢等. 复方柴归方对皮质酮诱导 PC12 细胞损伤的保护作用及转录组学机制研究 [J]. *中药药理与临床*, 2021, 37(2): 126-132.
- Zhao H L, Gao Y, Xiang H, et al. Study on the protective effect of Compound Chai Gui Formula on corticosterone-induced PC12 cell injury and its transfer omics mechanism [J]. *Pharmacol Clin Pract Tradit Chin Med*, 2021, 37(02): 126-132.
- [11] Guo X Y, Gong S Q, Chen Y, et al. Lifestyle behaviors and stress are risk factors for overweight and obesity in healthcare workers: A cross-sectional survey [J]. *BMC Public Health*, 2023, 23(1): 1791.
- [12] Li Z Y, Li Q Z, Chen L, et al. HPOB, an HDAC6 inhibitor, attenuates corticosterone-induced injury in rat adrenal pheochromocytoma PC12 cells by inhibiting mitochondrial GR translocation and the intrinsic apoptosis pathway [J]. *Neurochem Int*, 2016, 99: 239-251.
- [13] Zhou B H, Tan J, Zhang C, et al. Neuroprotective effect of polysaccharides from *Gastrodia elata* blume against corticosterone-induced apoptosis in PC12 cells via inhibition of the endoplasmic reticulum stress-mediated pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(1): 1182-1190.
- [14] 邢玉琦, 李妍, 王扬, 等. 抑郁症细胞模型的研究进展 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2023, 45(7): 1097-1103.
- Xing Y Q, Li Y, Wang Y, et al. Research progress on cell models of depression [J]. *Chin J Cell Biol*, 2023, 45(7): 1097-1103.
- [15] Li M Z, Zhou J J, Qian J L, et al. Target genes involved in corticosterone-induced PC12 cell viability and neurite disorders: A potential molecular mechanism of major depressive disorder [J]. *Psychiatry Res*, 2016, 235: 206-208.
- [16] Tian J S, Liu S B, He X Y, et al. Metabolomics studies on corticosterone-induced PC12 cells: A strategy for evaluating an *in vitro* depression model and revealing the metabolic regulation mechanism [J]. *Neurotoxicol Teratol*, 2018, 69: 27-38.
- [17] Zhang L, Yang Y, Di L, et al. Erxian decoction, a famous Chinese medicine formula, antagonizes corticosterone-induced injury in PC12 cells, and improves depression-like behaviours in mice [J]. *Pharm Biol*, 2020, 58(1): 498-509.
- [18] Li X, Qin X M, Tian J S, et al. Liquiritin protects PC12 cells from corticosterone-induced neurotoxicity via regulation of metabolic disorders, attenuation ERK1/2-NF-κB pathway, activation Nrf2-Keap1 pathway, and inhibition mitochondrial apoptosis pathway [J]. *Food Chem Toxicol*, 2020, 146: 111801.
- [19] Zhaleh H, Mahdizadeh H, Khoshkhouy S. *Punica granatum* seed essential oil suppressed methadone-induced cell death by natural antioxidant activity [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2023, 24(3): 801-810.
- [20] Chen Y Y, Liu Q P, An P, et al. Ginsenoside Rd: A promising natural neuroprotective agent [J]. *Phytomedicine*, 2022, 95: 153883.
- [21] 李秀娟, 沈慧, 魏林郁, 等. 孕酮减轻 ATP 诱导的 SH-SY5Y 细胞损伤 [J]. *中国病理生理杂志*, 2017, 33(9): 1587-1592.
- Li X J, Shen H, Wei L Y, et al. Effect of progesterone on SH-SY5Y cells injured by ATP [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2017, 33(9): 1587-1592.
- [22] 林晓婉, 马丽, 刘贝贝, 等. 孕酮减轻七氟醚诱导原代海马神经元损伤 [J]. *临床麻醉学杂志*, 2020, 36(7): 691-695.
- Lin X W, Ma L, Liu B B, et al. Progesterone attenuates sevoflurane-induced neuronal injury in primary hippocampal neurons [J]. *J Clin Anesthesiol*, 2020, 36(7): 691-695.
- [23] Aickareth J, Hawwar M, Sanchez N, et al. Membrane progesterone receptors (mPRs/PAQRs) are going beyond its initial definitions [J]. *Membranes (Basel)*, 2023, 13(3): 260.
- [24] Cao T, Chen Q, Zhang B K, et al. Clozapine induced disturbances in hepatic glucose metabolism: The potential role of PGRMC1 signaling [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, 12: 727371.
- [25] Pru J K. Pleiotropic actions of PGRMC proteins in cancer [J]. *Endocrinology*, 2022, 163(7): bqac078.

- [26] Stegemann L N, Neufeld P M, Hecking I, et al. Progesterone: A neuroprotective steroid of the intestine [J]. *Cells*, 2023, 12(8): 1206.
- [27] Cao T, Wang L W, Jiao S M, et al. The involvement of PGRMC1 signaling in cognitive impairment induced by long-term clozapine treatment in rats [J]. *Neuropsychobiology*, 2023, 82(6): 346-358.
- [28] Liu H L, Franken A, Bielfeld A P, et al. Progesterone-induced progesterone receptor membrane component 1 rise-to-decline changes are essential for decidualization [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2024, 22(1): 20.
- [29] Pang Y F, Thomas P. mPR α and PR co-operate in progesterone inhibition of endothelial cell focal adhesion [J]. *J Mol Endocrinol*, 2022, 70(1): e220073.
- [30] 赵娜娜, 李小薇. 孕激素受体在非妇产科应用的研究进展 [J]. *临床医学进展*, 2024, 14(7): 1261-1270.
- Zhao N N, Li X W. Research progress on the application of progesterone receptor in non-obstetrics and gynecology [J]. *Adv Clin Med*, 2024, 14(7): 1261-1270.

[责任编辑 兰新新]