

厚朴酚对抑郁模型大鼠海马神经可塑性的影响

卢 弢¹, 许 隽², 俞 斐^{1*}

1. 东南大学附属南京市第二医院 药剂科, 江苏 南京 210000

2. 南京市胸科医院, 江苏 南京 210000

摘要: **目的** 研究厚朴酚对抑郁模型大鼠海马神经可塑性的影响及其相关机制。**方法** SD 大鼠采用慢性温和不可知应激 (CUMS) 制备抑郁模型, ig 给予不同剂量的厚朴酚 (20、40 mg/kg), 阳性对照组给予氟西汀 (20 mg/kg), 共给药 28 d。观察各组大鼠自发活动、强迫游泳时间、糖水偏好程度 3 项行为学指标; 荧光定量 PCR 检测各组大鼠脑内海马、皮质、纹状体区域的微管相关蛋白-2 (MAP-2)、神经生长相关蛋白-43 (GAP43)、突触素 (SYP) 的 mRNA 表达; 免疫组化法检测大鼠海马区域 MAP-2、GAP43、SYP 蛋白表达水平; 免疫印迹法检测各组大鼠脑内海马区域 MAP-2、p-MAP-2 及磷酸化细胞外信号调节激酶 (p-ERK) 蛋白表达水平。**结果** 模型组大鼠自发活动减少、糖水偏好降低、强迫游泳不动时间延长, 造模成功。与模型组比较, 厚朴酚各剂量可以显著提高大鼠自发活动能力, 增加慢性应激大鼠糖水消耗量, 减少慢性应激大鼠在强迫游泳中的不动时间 ($P < 0.05$ 、 0.01); 提高慢性应激所致的大鼠海马区 MAP-2 mRNA 及蛋白水平的降低 ($P < 0.05$); 促进大鼠脑内海马区 p-MAP-2 蛋白表达 ($P < 0.05$), 显著提高 p-ERK 的表达 ($P < 0.05$)。**结论** 厚朴酚可以通过 ERK 通路影响 MAP-2 的磷酸化, 增加 MAP-2 的表达, 从而影响神经元的可塑性, 发挥其抗抑郁作用。

关键词: 抑郁症; 厚朴酚; 神经元可塑性; 微管相关蛋白-2; 神经生长相关蛋白-43; 突触素

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)20-4844-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.20.021

Effect of magnolol on hippocampal neuroplasticity in unpredictable chronic mild stress treated rats

LU Tao¹, XU Jun², YU Fei¹

1. The Second Hospital of Nanjing, Nanjing 210000, China

2. Nanjing Chest Hospital, Nanjing 210000, China

Abstract: **Objective** To investigate the effect and mechanism of magnolol on hippocampal neuroplasticity in depression model rats. **Methods** In this study, depression model rats were prepared with unpredictable chronic mild stress (UCMS), and was given different doses of magnolol (20, 40 mg/kg) for 28 d. The rats in the positive control group were given fluoxetine (20 mg/kg) for 28 d. The ameliorative effects of magnolol on symptom of depression were investigated through behavior tests including open-field test, sucrose preference test, and forced-swimming test. The mRNA levels of Map-2, Gap43, and SYP in the hippocampus, cortex and striatum of rats in each group were detected by qRT-PCR, and the localization and expression of MAP-2, GAP43, and SYP in the hippocampus were observed by immunohistochemical staining analysis. The quantitative analysis of MAP-2, p-MAP-2, and p-ERK in hippocampus of rats in each group were further analyzed by Western blotting. **Results** UCMS was able to decrease the sucrose preference index, reduce locomotor activity and increase the immobility time in the forced swimming test. Compared with model group, magnolol significantly increased the spontaneous activity of rats, increased the consumption of sugar and water, and decreased the immobility time of chronic stress rats in forced swimming ($P < 0.05$, 0.01). Magnolol reversed MAP-2 mRNA and protein level in the hippocampus, increased phosphorylated MAP-2 expression in the hippocampus ($P < 0.05$), and significantly restored the p-ERK expression ($P < 0.05$). **Conclusion** Magnolol can affect the phosphorylation of MAP-2 through ERK pathway and increase the expression of MAP-2, thus affecting the neuronal plasticity and exerting its antidepressant effect.

Key words: depression; magnolol; neuroplasticity; MAP-2; GAP43; synaptophysin

收稿日期: 2018-05-07

作者简介: 卢 弢, 临床药师。E-mail: 89665309@qq.com

*通信作者 俞 斐, 药理学部主任。E-mail: yufe1006@126.com

抑郁症是一类常见的情感障碍性精神疾病,致使患者的生活和工作受到困扰,其发病机制及具体病因至今尚未完全阐明^[1]。神经可塑性假说认为神经元受损是抑郁症发生的重要原因,抗抑郁药物治疗抑郁症的共同作用机制是促进神经元再生^[2-3]。

厚朴是传统中医学中常用的一味药材,具有行气化湿、温中止痛、降逆平喘的功效。厚朴酚作为厚朴中的主要酚类活性成分,具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、激素调节等药理作用。已有研究发现厚朴酚可以通过增加大鼠海马区域脑源性神经营养因子(BDNF)促进海马神经的增殖,从而达到抗抑郁的作用^[4],但是神经元再生过程不只局限于增殖,关键的是再生后神经元的成熟^[5]。因此,本研究进一步探讨了厚朴酚对慢性温和不可知应激(CUMS)模型大鼠微管相关蛋白-2(MAP-2)、神经生长相关蛋白-43(GAP43)、突触素(synaptoporin, SYP)的影响,分析其是否通过作用于神经元的骨架、轴突、突触影响神经元可塑性,从而发挥抗抑郁功效。

1 材料

1.1 实验动物

SD大鼠,雄性,SPF级,体质量180~220 g,购于上海灵畅生物科技有限公司,许可证号SCXK(沪)2013-0018。动物分笼饲养,保持12 h昼夜节律(早上7点开灯),室温(22±1)℃,湿度(50±10)%,自由饮水摄食。

1.2 药物与试剂

厚朴酚购自西格玛奥德里奇贸易有限公司,批号SLBW6071,质量分数>95%(HPLC级)。盐酸氟西汀,批号LRAA9183,西格玛奥德里奇贸易有限公司。

兔抗鼠MAP-2多克隆抗体、兔抗鼠GAP43多克隆抗体、兔抗鼠SYP多克隆抗体、兔抗鼠β-actin多克隆抗体购自Santa Cruz公司;兔抗鼠p-MAP-2多克隆抗体、兔抗鼠磷酸化细胞外信号调节激酶(p-ERK)多克隆抗体购自CST公司;辣根酶标记山羊抗兔IgG为北京中杉金桥公司产品;逆转录试剂盒及荧光定量PCR试剂盒购自Takara公司,其余试剂均为国产分析纯试剂。

1.3 仪器

电子天平(赛多利斯天平有限公司);台式高速冷冻离心机(Eppendorf公司,美国);HM340E石蜡切片机(Thermo公司,美国);IX51倒置显微镜(Olympus公司,日本),StepOnePlus荧光定量PCR

仪(ABI公司,美国)。

2 方法

2.1 CUMS大鼠模型制备及给药

SD大鼠通过开野实验^[6]进行评分后,选择评分接近的大鼠,按体质量随机分为5组,每组10只,即对照组、模型组、氟西汀组及厚朴酚低、高剂量组。参照前期文献报道^[4],对照组不给予任何刺激,氟西汀组按大鼠体质量给予20 mg/kg的氟西汀,厚朴酚低、高剂量组按大鼠体质量分别给予20、40 mg/kg剂量的厚朴酚,模型组给予等量蒸馏水。造模同时每日8:00 ig给药,共持续28 d。

对照组大鼠每笼饲养5只,置于单独房间内,除常规饲养清洁外,避免惊扰。参考文献方法^[7],其余各组大鼠单笼饲养,建立CUMS模型,每天选取3~4个应激因子,避免重复,持续28 d。选用的应激因子包括禁食(12 h)、禁水(12 h)、倾斜饲养(45°, 12 h)、湿笼(洒100 mL水在垫料上)、持续光照(24 h)、冷水游泳(10℃, 6 min)、群居、昼夜颠倒、夹尾(距尾根1 cm处,夹闭1 min)、限制进食(3颗饲料)、足底电击(1 mA, 20 s/min, 30 min),平均每刺激各3次。

2.2 行为学指标

2.2.1 自发活动 参考文献方法^[6],实验在安静环境(室内隔音保持安静状态)中进行,将大鼠置于100 cm×100 cm×40 cm敞箱中央格后开始计时,观察并记录5 min内大鼠水平穿梭格次数(行走路线与格子交叉点数)和直立次数(大鼠两前爪腾空或攀附箱壁次数),每次测试后彻底清洁敞箱,每只大鼠只测1次。

行为评定采用双盲法,水平运动得分以穿越1格为1分,反映大鼠的运动活动性水平;垂直运动得分以直立次数计,反映其兴趣高低。

2.2.2 强迫游泳 参照Porsolt等^[8]的方法,慢性应激结束后,将大鼠放入水深40 cm的有机玻璃圆筒(水温25℃)中强迫游泳,观察6 min并记录后4 min内各组大鼠的累计不动时间,应激结束后烤干放回笼中。

动物不动行为的判断标准:大鼠微卷躯体,但保持垂直姿势,鼻孔露出水面。以累计不动时间为指标,比较各组间差异。

2.2.3 糖水消耗 参考文献方法^[9],慢性应激结束后,所有大鼠禁食禁水24 h,给予2个预先称定质

量的饮水瓶,分别装有相同质量的 1%蔗糖溶液和普通饮用水,记录 1 h 内各组大鼠饮用水消耗量、糖水消耗量,计算糖水偏好程度(sucrose preference, SP),比较各组间差异。

$$SP = \text{糖水消耗量} / (\text{糖水消耗量} + \text{饮用水消耗量})$$

2.3 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测大鼠脑部 MAP-2、GAP43、SYP mRNA 表达

分离各组大鼠海马、纹状体、皮质, Trizol 法提取总 RNA, 以等量的 RNA 逆转录成 cDNA。以 GAPDH 作为内参基因, 按照 Takara 荧光定量试剂盒说明书进行 qRT-PCR 反应, 分析各组大鼠脑部不同区域内 MAP-2、GAP43、SYP 的表达, 引物序列见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列
Table 1 Primers for qRT-PCR

基因	引物序列 (5'→3')
SYP	上游: AACAAAGGGCCTATGATGGA
	下游: CCAGGTTTCAGGAAGCCAAA
GAP43	上游: TCCGTGGACACATAACAAGG
	下游: GCAGCATCAGTGACAGCAGC
MAP-2	上游: AAAGACCAACCTGCAGCTCTG
	下游: TCCACTGGGACCGTCTGTTC
GAPDH	上游: CACCACCATGGAGAAGGCC
	下游: GATGGATGCCTTGCCAGG

2.4 免疫组化检测大鼠海马区域 MAP-2、GAP43、SYP 蛋白表达

每组随机选取 5 只大鼠, 麻醉后 4%多聚甲醛灌注固定组织, 断头取脑, 石蜡包埋, 修切蜡块至含有海马的冠状面切片, 厚度 6 μm。使用链霉亲和素-生物素复合物 (SABC) 法进行 MAP-2、GAP43、SYP 蛋白的免疫组化染色。利用 Olympus-BX50 显微镜进行图像采集和处理, 光镜 40 倍物镜下随机选取不同视野采集图像, 观察免疫反应阳性细胞的光密度强弱。

2.5 Western blotting 法检测大鼠海马区组织 MAP-2、p-MAP-2 及 p-ERK 蛋白表达

提取大鼠海马区组织, 加入蛋白裂解液后冰上裂解, 离心取上清, BCA 法测定蛋白浓度, 加入蛋白上样缓冲液煮沸 10 min 后备用。取等量蛋白 (40 μg) 进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 一抗 4 ℃孵育过夜后, 加入对应二抗 (1:2 000) 室温孵育 2 h, ECL 显影, 数码化学发光成像系统拍照。

2.6 统计学分析

实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, SPSS 11.5 进行数据分析, 采用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 进行多组间总体比较, 以 student *t* 检验比较组间差异。

3 结果

3.1 厚朴酚对抑郁模型大鼠的行为学指标的影响

3.1.1 厚朴酚对大鼠自发活动的影响 开野实验、大鼠水平运动得分和垂直运动得分反映其自主运动能力。如表 2 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠水平运动和垂直运动均显著减少 ($P < 0.01$), 说明大鼠自发活动减少, 反映了大鼠的抑郁状态。氟西汀及厚朴酚低、高剂量均可改善大鼠的抑郁行为表现 ($P < 0.05$ 、 0.01), 且厚朴酚高剂量组大鼠的得分与氟西汀组接近。

3.1.2 厚朴酚对大鼠强迫游泳不动时间的影响 强迫游泳实验以大鼠在水中的不动时间评估其行为绝望状态, 结果如表 3 所示, 模型组大鼠不动时间较对照组显著延长 ($P < 0.01$), 说明应激后大鼠的绝望时间延长, 抑郁模型造模成功。与模型组比较,

表 2 厚朴酚对抑郁模型大鼠自主活动的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of magnolol on open field test of depression model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	水平得分	垂直得分
对照	—	40.44 ± 3.44	10.9 ± 2.09
模型	—	13.88 ± 1.90**	3.4 ± 0.81**
氟西汀	20	32.55 ± 3.67 ^{△△}	10.4 ± 1.71 ^{△△}
厚朴酚	20	26.55 ± 3.75 [△]	6.1 ± 0.87 [△]
	40	37.33 ± 3.32 ^{△△}	9.8 ± 1.55 ^{△△}

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$, 表 3、4 同

** $P < 0.01$ vs control group; [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ vs model group, same as tables 3 and 4

表 3 厚朴酚对抑郁模型大鼠强迫游泳不动时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of magnolol on forced swimming test of depression model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	游泳不动时间/s
对照	—	137.78 ± 8.11
模型	—	179.22 ± 9.59**
氟西汀	20	135.10 ± 6.27 ^{△△}
厚朴酚	20	140.40 ± 9.37 [△]
	40	121.90 ± 6.79 ^{△△}

厚朴酚和氟西汀可改善慢性应激大鼠的绝望行为,其中厚朴酚高剂量与氟西汀可以显著性缩短大鼠的不动时间 ($P<0.01$),提高动物在绝望状态下的行为能力。

3.1.3 厚朴酚对大鼠糖水偏好的影响 慢性应激作用数周后,模型组大鼠表现为较少的水平活动和垂直活动次数,减低的糖水消耗量,其所表现出的抑郁状态与抑郁症患者临床常见的精神运动改变相似。如表 4 所示,与对照组比较,模型组大鼠 SP 显著降低 ($P<0.01$),说明大鼠处于快感缺失的抑郁状态,而厚朴酚可逆转此种改变,且厚朴酚高剂量组与氟西汀组大鼠的 SP 显著升高 ($P<0.01$)。

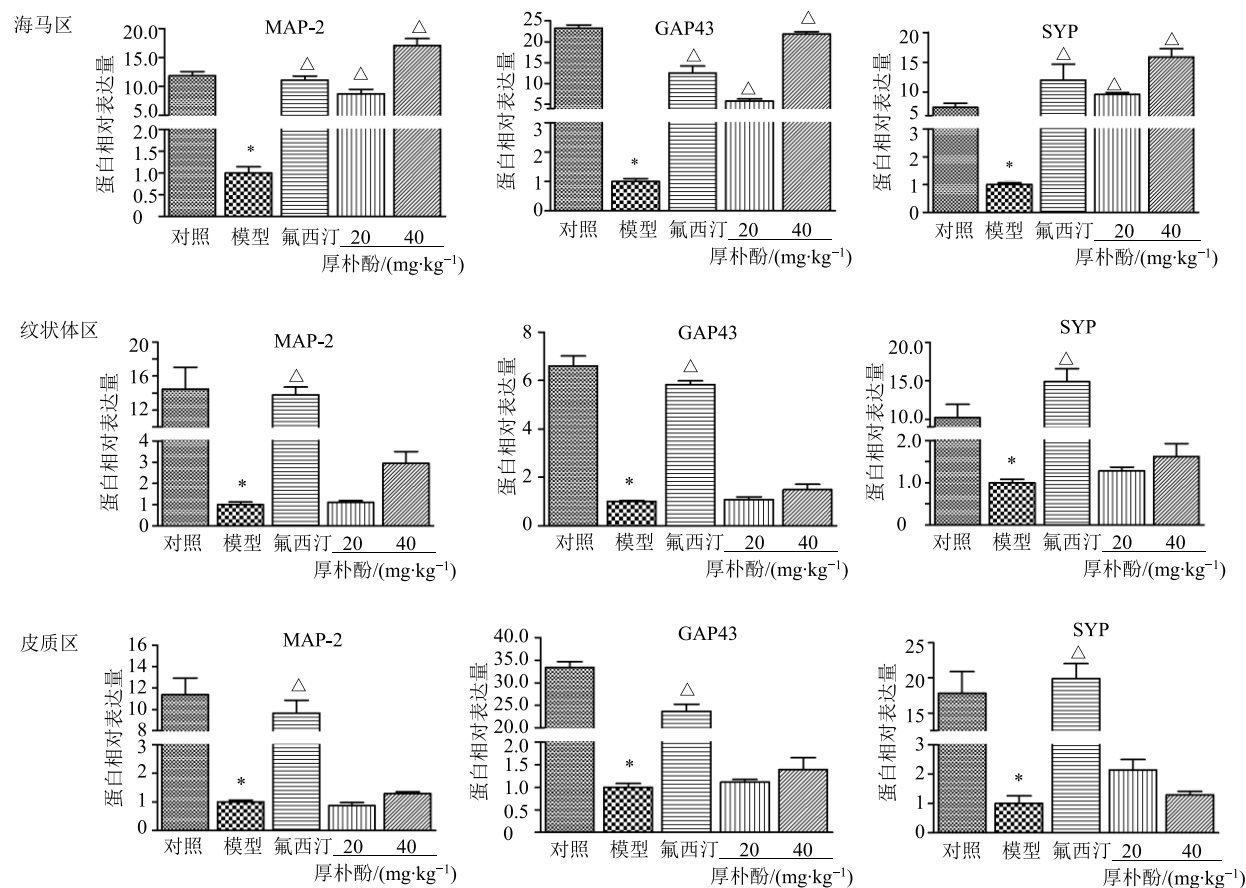
3.2 厚朴酚对抑郁模型大鼠脑部各区域 MAP-2、GAP43、SYP mRNA 表达的影响

结果如图 1 所示,模型组大鼠海马、纹状体、皮质中 MAP-2、GAP43、SYP mRNA 表达均显著降

低 ($P<0.05$)。与模型组比较,厚朴酚不同剂量组大鼠海马组织中 MAP-2、GAP43、SYP mRNA 表达均显著提高 ($P<0.05$),并呈现剂量依赖性;而皮质组织和纹状体中,厚朴酚对 3 者的影响不明显。与厚朴酚的作用模式不同,氟西汀在大鼠脑部 3 种组织中均能提高 MAP-2、GAP43、SYP mRNA 的表达,提示厚朴酚的作用机制与氟西汀存在差异。

表 4 厚朴酚对抑郁模型大鼠糖水偏好的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)
Table 4 Effect of magnolol on sucrose preference of depression model rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	SP/%
对照	—	69.51±1.94
模型	—	47.32±1.50**
氟西汀	20	60.22±1.51 ^{△△}
厚朴酚	20	56.01±3.47 [△]
	40	60.83±3.27 ^{△△}



与对照组比较: * $P<0.05$; 与模型组比较: [△] $P<0.05$, 下同
* $P<0.05$ vs control group; [△] $P<0.05$ vs model group, same as below

图 1 厚朴酚对抑郁模型大鼠脑部各区域 MAP-2、GAP43、SYP mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)
Fig. 1 Effect of magnolol on expression of MAP-2, GAP43, and SYP mRNA in different regions of brain of depression model rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

3.3 厚朴酚对抑郁模型大鼠海马区 MAP-2、GAP43、SYP 蛋白表达的影响

结果如图 2 所示, 免疫组化结果显示, 与对照组比较, 模型组大鼠海马组织 MAP-2、GAP43、SYP 蛋白表达显著降低, 表现为海马 CA1 区光密度明显减少。与模型组比较, 厚朴酚各剂量均可增加大鼠

海马区 MAP-2 蛋白表达, 而 GAP43、SYP 蛋白表达未发生显著改善, 可能是由于厚朴酚仅作用于神经元重塑的关键海马区域。因此采用 Western blotting 法对海马区 MAP-2 蛋白表达进行了定量分析(图 3), 发现厚朴酚各剂量可提高大鼠海马区 MAP-2 蛋白表达水平 ($P<0.05$), 且其作用效果与氟西汀相当。

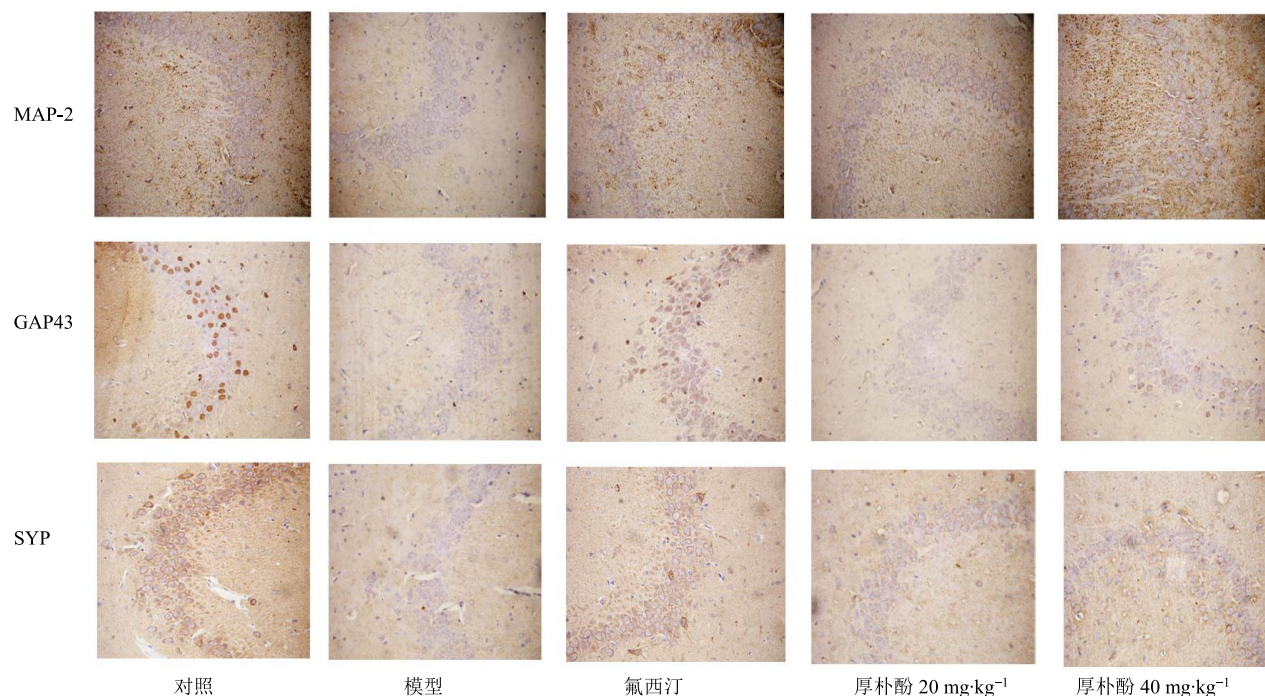


图 2 厚朴酚对抑郁模型大鼠海马区 MAP-2、GAP43、SYP 蛋白表达的影响 ($\times 40$)

Fig. 2 Effect of magnolol on expression of MAP-2, GAP43, and SYP protein in hippocampus of depression model rats ($\times 40$)

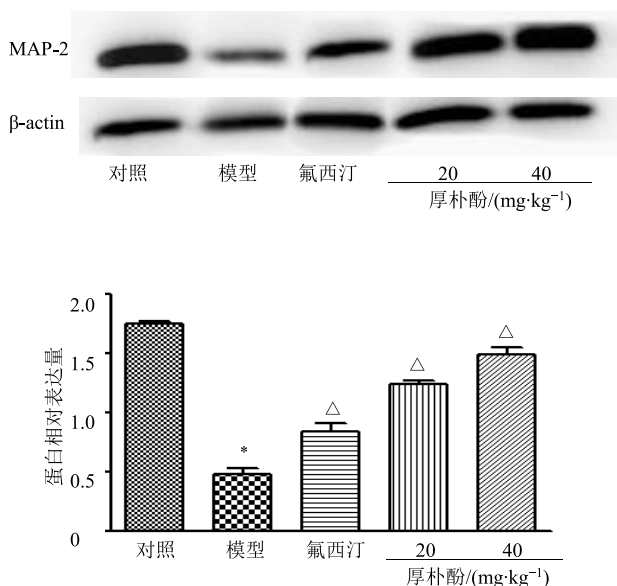


图 3 厚朴酚对抑郁模型大鼠海马区 MAP-2 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Fig. 3 Effect of magnolol on expression of MAP-2 protein in hippocampus of depression model rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

3.4 厚朴酚对抑郁模型大鼠海马区 p-MAP-2 及 p-ERK 表达的影响

结果如图 4 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠海马区 p-MAP-2 蛋白表达水平下调 ($P<0.05$), 而厚朴酚各剂量可不同程度地逆转这种变化 ($P<0.05$)。与对照组比较, 模型组大鼠海马组织中 p-ERK 表达水平下调 ($P<0.05$)。与模型组比较, 厚朴酚各剂量均可提高 p-ERK 的表达水平 ($P<0.05$), 提示 MAP-2 的表达与 ERK 通路激活相关。

4 讨论

抑郁症作为一类常见的障碍性精神疾病, 其发病机制至今尚未完全明确, 但众多学者指出, 应激因素在抑郁症的发病过程中起着关键的作用^[10]。临床数据显示, 长期的慢性应激不仅可引起海马神经元萎缩、变性、死亡, 更重要的是应激和抑郁状态时海马等脑区神经元再生也出现障碍, 而抗抑郁剂的长期治疗能促进海马神经元细胞的数量增加、功能增强, 提高神经元的可塑性。为了模拟长期应激

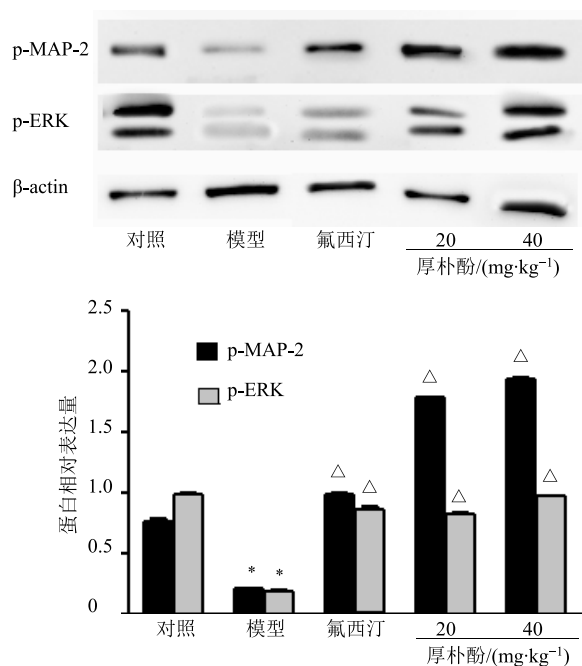


图 4 厚朴酚对 p-MAP-2、p-ERK 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 4 Effect of magnolol on expression of p-MAP-2 and p-ERK protein in hippocampus of depression model rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

导致的抑郁指征, 本实验利用公认的 CUMS 方法制备抑郁模型^[11], 将多变性和不可预测性应激因子随机在实验过程中使用, 与人类抑郁症的致病过程有相似性^[12-13]。经过 28 d 应激后, 大鼠的糖水消耗减少, 自发活动减少, 强迫游泳的不动时间显著增加, 显示出大鼠的抑郁状态, 说明抑郁模型制备成功。厚朴酚各剂量能提高应激大鼠的糖水消耗水平和自发活动能力, 缩短强迫游泳的不动时间, 其中厚朴酚高剂量的作用与阳性药氟西汀 (40 mg/kg) 作用相当, 均表现出较强的抗抑郁活性。

前期研究报道厚朴酚可以通过促进抑郁模型小鼠海马脑源性神经营养因子 (BDNF) 的表达^[4]和蛋白激酶 B (Akt) 依赖的神经元标志蛋白 NeuN 的增加^[14], 促进海马神经元再生, 进而发挥抗抑郁作用。但是神经元再生的过程除了需要神经元形态的完整, 还需要与周围的神经元建立连接, 即提高神经元的可塑性。MAP-2 作为调控神经元突触的可塑性以及反应细胞骨架动力学变化的重要蛋白, 与发育期的树突再生有关^[15]。GAP43 与轴突生长紧密相关, 对神经元可塑性具有重要意义^[16]。SYP 是一种与突触结构和功能密切相关的钙结合蛋白, 作为突触囊泡的特异性标志蛋白, 是神经元功能的标志物

之一^[17]。因此, 本实验检测各组大鼠脑内不同区域的 MAP-2、GAP43、SYP mRNA 表达水平, 发现与对照组比较, 模型组大鼠 MAP-2、GAP43、SYP mRNA 表达水平在脑内各区域均显著减少, 说明慢性应激可以导致大鼠脑内神经元受损。厚朴酚可以提高 MAP-2、GAP43、SYP mRNA 在大鼠海马区域的表达水平, 但在皮质及纹状体区域无显著影响, 提示厚朴酚可能仅通过作用于神经元再生的核心区域海马区中的神经元发挥作用。由此, 本实验进一步对 MAP-2、GAP43、SYP 在大鼠海马组织中的蛋白表达进行分析, 发现与对照组比较, 模型组大鼠海马 MAP-2、GAP43、SYP 蛋白表达水平均显著降低, 在海马的 CA1 区域更加明显。厚朴酚可显著提高大鼠海马中 MAP-2 蛋白表达水平, 提示厚朴酚的作用机制可能是通过改善慢性应激导致的神经元骨架相关蛋白的下调, 从而促进神经元形态的成熟。

MAP-2 是哺乳动物脑中表达最丰富的蛋白之一, 与突触后膜骨架上一些信号蛋白和膜受体相连, 是许多神经信号传导通路的底物, 包括 cAMP 依赖蛋白激酶、钙-钙调素依赖性蛋白激酶 II、丝裂酶原激活蛋白激酶 (MAPK) 及 ERK^[18-21]等。在生理条件下, MAP-2 的磷酸化与非磷酸化蛋白处于动态平衡中, MAP-2 主要以磷酸化方式参与神经元形态、结构的调节^[22]。多种研究结果显示, MAPK 对神经元细胞骨架的调节在形态学改变过程中发挥重要作用, 包括突起生长、分支形成、突触生长等重要的生理现象^[23]。ERK 是 MAPK 家族的重要成员, ERK 被磷酸化之后进入细胞核, 激活其下游底物, 是多种细胞骨架蛋白磷酸化重要的调节激酶。本研究结果显示, 慢性应激可以导致大鼠海马 MAP-2 蛋白磷酸化水平显著降低, 提示抑郁大鼠脑内 MAP-2 蛋白磷酸化的平衡被打破, 而厚朴酚可提高大鼠脑内 MAP-2 蛋白磷酸化水平, 从而促进微管蛋白的聚合和解聚, 有利于突起分支的形成及神经元功能的增强。

综上, 本研究制备慢性不可预见性应激模型大鼠, 证实厚朴酚可以改善大鼠的抑郁样行为, 其作用机制可能是通过提高抑郁模型大鼠海马区 MAP-2 蛋白的表达水平和 ERK 蛋白磷酸化水平, 促使 ERK 通路影响 MAP-2 蛋白的磷酸化, 影响神经元形态及功能的再生, 从而提高神经元的可塑性, 发挥其抗抑郁作用。

参考文献

- [1] Baker C B. Quantitative analysis of sponsorship bias in economic studies of antidepressants [J]. *Br J Psychiatry*, 2003, doi: 10.1192/bjp.183.6.498.
- [2] Jayatissa M N, Bisgaard C F, West M J, *et al.* The number of granule cells in rat hippocampus is reduced after chronic mild stress and re-established after chronic escitalopram treatment [J]. *Neuropharmacology*, 2008, 54(3): 503-541.
- [3] Rupsh I M, Karan S, Karen J P, *et al.* Social stress-related behavior affects hippocampal cell proliferation in mice [J]. *Physiol Behav*, 2006, 89(2): 123-127.
- [4] 傅强, 马占强, 杨文等. 厚朴酚对慢性温和刺激所致抑郁小鼠的抗抑郁作用研究 [J]. *中药药理与临床*, 2013, 29(2): 47-51.
- [5] Gordon-Weeks P R, Fournier A E. Neuronal cytoskeleton in synaptic plasticity and regeneration [J]. *J Neurochem*, 2014, 129(2): 206-212.
- [6] Katz R J, Roth K A, Carroll B J. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat implications for a model of depression [J]. *Neuro Biobehav Rev*, 1981, 5(2): 247-251.
- [7] Willer P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: A 10-year review and evaluation [J]. *Psychopharmacology*, 1997, 134(4): 319-329.
- [8] Porsolt R D, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: A new animal model sensitive to antidepressant treatments [J]. *Nature*, 1977, 266(5604): 730-732.
- [9] D' Aquila P S, Brain P, Willer P. Effects of chronic mild stress on performance in behavioral tests relevant to anxiety and depression [J]. *Physiol Behav*, 1994, 56(5): 861-864.
- [10] Arantes-Gonçalves F, Coelho R. Depression and treatment. Apoptosis, neuroplasticity and antidepressants [J]. *Acta Med Portuguesa*, 2006, 19(1): 9-20.
- [11] 罕园园, 代解杰. 抑郁症动物模型与其发病机制研究的进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2016, 24(3): 321-326.
- [12] Hill M N, Hellems K G, Verma P, *et al.* Neurobiology of chronic mild stress: Parallels to major depression [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2012, 36(9): 2085-2117.
- [13] Allen F. *American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Psychiatric Disorders* [M]. Ashington: American Psychiatric Association, 1994.
- [14] Matsui N, Akae H, Hirashima N, *et al.* Magnolol enhances hippocampal neurogenesis and exerts antidepressant-like effects in olfactory bulbectomized mice [J]. *Phytother Res*, 2016, 30(11): 1856-1861.
- [15] Soetanto A, Wilson R S, Talbot K, *et al.* Association of anxiety and depression with microtubule-associated protein 2- and synaptopodin-immunolabeled dendrite and spine densities in hippocampal CA3 of older humans [J]. *Arch Gen Psychiatry*, 2010, 67(5): 448-457.
- [16] Morita S, Miyata S. Synaptic localization of growth-associated protein 43 in cultured hippocampal neurons during synaptogenesis [J]. *Cell Biochem Funct*, 2013, 31(5): 400-411.
- [17] Kwon S E, Chapman E R. Synaptophysin regulates the kinetics of synaptic vesicle endocytosis in central neurons [J]. *Neuron*, 2011, 70(5): 847-854.
- [18] Sánchez C, Díaz-Nido J, Avila J. Phosphorylation of microtubule-associated protein 2 (MAP2) and its relevance for the regulation of the neuronal cytoskeleton function [J]. *Prog Neurobiol*, 2000, 61(2): 133-168.
- [19] Theurkauf W E, Vallee R B. Extensive cAMP-dependent and cAMP-independent phosphorylation of microtubule-associated protein 2 [J]. *J Biol Chem*, 1983, 258(12): 7883-7886.
- [20] Schulman H. Phosphorylation of microtubule-associated proteins by a Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase [J]. *J Cell Biol*, 1984, 99(1 pt 1): 11-19.
- [21] Leem Y H, Yoon S S, Kim Y H, *et al.* Disrupted MEK/ERK signaling in the medial orbital cortex and dorsal endopiriform nuclei of the prefrontal cortex in a chronic restraint stress mouse model of depression [J]. *Neurosci Lett*, 2014, doi: 10.1016/j.neulet.2014.08.001.
- [22] Kaech S, Parmar H, Roelandse M, *et al.* Cytoskeletal microdifferentiation: A mechanism for organizing morphological plasticity in dendrites [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(13): 7086-7092.
- [23] Goodman C S, Shatz C J. Developmental mechanisms that generate precise patterns of neuronal connectivity [J]. *Cell*, 1993, 72(Suppl 1): 77-98.