

沉香提取物对皮质酮诱导 PC12 细胞损伤的保护作用及机制研究

马家乐, 符昭君, 王鑫玉, 靳凤玉, 赵一慕, 孟英心, 王凌潇, 李 军*, 郑 姣*

北京中医药大学中药学院 中药现代研究中心, 北京 100029

摘要: 目的 利用皮质酮诱导大鼠肾上腺髓质嗜铬瘤分化细胞株 PC12 损伤, 模拟糖皮质激素诱发神经功能障碍的病理过程, 探讨沉香提取物对神经细胞的保护作用及其机制。方法 采用 400 $\mu\text{mol/L}$ 皮质酮诱导的 PC12 细胞作为神经元损伤模型, 给予沉香提取物 (5、10、20 $\mu\text{g/mL}$) 干预细胞 24 h 后, 利用 CCK-8 试剂盒检测细胞存活率; 采用 Hoechst 33258 染色和流式细胞术检测细胞凋亡率; 通过 Western blotting 检测凋亡相关蛋白半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (cystein-aspartate protease-3, Caspase-3)、cleaved Caspase-3、聚腺苷酸二磷酸核糖转移酶[poly(ADP-ribose)polymerase, PARP]、cleaved PARP 表达情况。结果 与对照组比较, 皮质酮处理 PC12 细胞 24 h 后细胞存活率显著降低 ($P < 0.01$), 细胞凋亡率显著升高 ($P < 0.01$), cleaved PARP/PARP 和 cleaved Caspase-3/Caspase-3 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 给予沉香提取物 24 h 后细胞存活率显著升高 ($P < 0.05, 0.01$), 凋亡率显著降低 ($P < 0.01$), cleaved PARP/PARP 和 cleaved Caspase-3/Caspase-3 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$)。结论 沉香提取物通过调控 Caspase-3/PARP 通路改善皮质酮诱导的 PC12 细胞凋亡, 从而保护神经元。

关键词: 沉香; PC12 细胞; 神经损伤; 皮质酮; 凋亡; 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3; 聚腺苷酸二磷酸核糖转移酶

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2022)04-1093-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.04.016

Protective effect and mechanism of *Aquilariae Lignum Resinatum* extract on corticosterone induced PC12 cells injury

MA Jia-le, FU Zhao-jun, WANG Xin-yu, JIN Feng-yu, ZHAO Yi-mu, MENG Ying-xin, WANG Ling-xiao, LI Jun, ZHENG Jiao

Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Abstract: Objective Corticosterone was used to induce the injury of rat adrenal medulla pheochromocytoma cell line PC12 to simulate the pathological process of glucocorticoid-induced neurological dysfunction, so as to explore the protective effect and mechanism of *Chenxiang* (*Aquilariae Lignum Resinatum*) extract on nerve cells. **Methods** PC12 cells induced by 400 $\mu\text{mol/L}$ corticosterone were used as neuron injury model. After 24 h of intervention with *Aquilariae Lignum Resinatum* extract (5, 10, 20 $\mu\text{g/mL}$), cell survival rate was detected by CCK-8 kit; Hoechst 33258 staining and flow cytometry were used to detect cell apoptosis rate; Western blotting was used to detect apoptosis-related proteins cystein-aspartate protease-3 (Caspase-3), cleaved Caspase-3, poly(ADP-ribose)polymerase (PARP) and cleaved PARP expressions. **Results** Compared with control group, survival rate of PC12 cells treated with corticosterone for 24 h was significantly decreased ($P < 0.01$), apoptosis rate was significantly increased ($P < 0.01$), cleaved PARP/PARP and cleaved Caspase-3/Caspase-3 protein expressions were significantly increased ($P < 0.01$). Compared with model group, survival rate of PC12 cells treated with *Aquilariae Lignum Resinatum* extract for 24 h was significantly increased ($P < 0.05, 0.01$), apoptosis rate was significantly decreased ($P < 0.01$), cleaved PARP/PARP and cleaved Caspase-3/Caspase-3 protein expressions were significantly decreased ($P < 0.01$). **Conclusion** *Aquilariae Lignum Resinatum* extract improves corticosterone-induced apoptosis of PC12 cells by regulating PARP/Caspase-3 pathway, thereby protecting neurons.

Key words: *Aquilariae Lignum Resinatum*; PC12 cells; nerve injury; corticosterone; apoptosis; Caspase-3; poly(ADP-ribose)polymerase

收稿日期: 2021-11-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82003912); 国家重点研发项目 (2018YFC1706400)

作者简介: 马家乐 (1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药理学。Tel: 17864191175 E-mail: 17864191175@163.com

*通信作者: 李 军, 博士生导师, 研究员, 主要从事中药药效物质及作用机制研究。E-mail: drlj666@163.com

郑 姣, 硕士生导师, 副研究员, 主要从事中药药理学研究。E-mail: zj98v2@163.com

重度抑郁症 (major depressive disorder, MDD) 是一种常见的致残性精神障碍疾病, 影响着全世界约 3.5 亿人^[1-2]。当抑郁症发生时, 机体感受到应激源激活下丘脑-垂体-肾上腺 (hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA) 轴, 从而导致肾上腺皮质合成糖皮质激素 (glucocorticoids, GCs)。GCs 在机体代谢、免疫功能等多种生命活动过程的调节中起着至关重要的作用。GCs 的分泌和血液中 GCs 的水平可通过 HPA 轴的负反馈抑制来调节^[3]。由于极端或慢性压力, 持续暴露于血液中高浓度的 GCs 会导致 HPA 轴和负反馈机制的功能障碍, 导致 GCs 过度分泌, 从而对神经系统造成损害^[4]。中枢神经系统慢性应激诱导的神经元细胞死亡是神经功能障碍的原因之一, 包括记忆丧失、学习障碍和认知障碍, 还可能引发焦虑和抑郁等精神障碍^[5]。啮齿动物体内的 GCs 主要是皮质酮, 由于 HPA 反馈功能障碍, 持续暴露于高浓度皮质酮可引起病理性海马神经元损伤, 诱发抑郁样行为^[6]。因此, 改善皮质酮诱导的神经元损伤已成为治疗焦虑和抑郁的潜在靶标。

沉香为瑞香科沉香属植物白木香 *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg 含树脂的木材, 是沉香四味散、八味沉香散、沉香化气丸等经典名方的主要组成药味。沉香作为名贵中药材已有千年应用历史, 被列为“沉檀龙麝”四香之首, 具有非常宝贵的药用价值。沉香作为药物始载于梁代陶弘景的《名医别录》, 名列上品, 曰: “沉香、薰陆香、鸡舌香、藿香、詹糖香、枫香并微温。悉治风水毒肿, 去恶气”。在《本草纲目》中, 李时珍就用“去恶气, 清人神”来描述沉香的功效。现代药理学研究表明, 沉香具有镇静催眠、抗焦虑、抗抑郁的作用, 但仅为活性筛选和药效评价, 尚未深入阐明沉香镇静安神的作用机制^[7-10]。大鼠肾上腺髓质嗜铬瘤分化细胞株 PC12 是一种具有典型神经元特征并具有高水平 GCs 受体的细胞系, 已被用作模拟高浓度皮质酮刺激时海马神经元损伤的经典模型。因此本研究利用皮质酮诱导的 PC12 细胞模型, 初步探究沉香提取物的神经保护作用 and 机制, 为沉香防治抑郁症提供研究基础和依据。

1 材料

1.1 细胞

PC12 细胞由北京大学曾克武教授赠予。

1.2 药材

沉香购自海南, 经北京大学屠鹏飞教授鉴定为

瑞香科植物白木香 *A. sinensis* (Lour.) Gilg 含树脂的木材。

1.3 试剂

DMEM 培养基 (批号 11965092)、青霉素-链霉素双抗 (批号 15140163)、胎牛血清 (批号 12483020)、PBS 溶液 (批号 20012050)、胰酶 (批号 25200072) 均购自美国 Gibco 公司; CCK-8 试剂盒 (批号 BN15201) 购自北京拜尔迪生物技术有限公司; 皮质酮 (批号 S30265) 购自上海源叶生物科技有限公司; Hoechst 33258 (批号 23491-45-4) 购自北京索莱宝科技有限公司; Annexin V-FITC/碘化丙啶 (PI) 双染细胞凋亡试剂盒 (批号 556547) 购自美国 BD 公司; RIPA 裂解液 (批号 P0013B) 购自上海碧云天生物技术有限公司; 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (cystein-aspartate protease-3, Caspase-3) 抗体 (批号 14220S)、聚腺苷酸二磷酸核糖转移酶 [poly(ADP-ribose)polymerase, PARP] 抗体 (批号 9532T)、 β -actin 抗体 (批号 3700T)、HRP 标记的山羊抗兔抗体 (批号 7074P2) 均购自美国 CST 公司。

1.4 仪器

多功能酶标仪 (美国 PerkinElmer 公司); 冷冻离心机 (美国 Eppendorf 公司); CriterionTM 型电泳槽 (美国 Bio-Rad 公司); DYY-6D 型电泳仪 (北京六一仪器厂); 细胞培养箱 (日本 Sanyo 公司); 倒置荧光显微镜 (德国 Leica 公司); 流式细胞仪 (美国 BD 公司); 分析型高效液相色谱仪 (HPLC, 日本岛津公司)。

2 方法

2.1 沉香提取物的制备

取沉香药材粉末 10 kg, 分别用 10、8、8 倍量 95%乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h, 共得到 3 kg 浸膏, 即为沉香提取物 (由北京中医药大学现代研究中心化学实验室提供)。经 HPLC 检测沉香提取物中沉香四醇质量分数为 1.89%。

2.2 PC12 细胞培养

PC12 细胞用含 10%胎牛血清、1%双抗的 DMEM 完全培养基, 于 5% CO₂、37 °C 的恒温培养箱中培养。待 2~3 d 细胞融合度达到 80%时, 用 0.125%的胰酶消化, 进行传代处理。

2.3 皮质酮对 PC12 细胞存活率的影响

取对数生长期的 PC12 细胞, 以 4×10^4 /mL 接种于 96 孔板中, 每孔 100 μ L, 培养 24 h。设置空白组、对照组和实验组。空白组不加入细胞, 加入

完全培养基后不做任何处理；对照组用完全培养基正常培养 PC12 细胞；实验组分别加入 100 μL 终浓度为 200、400、600、800、1000 $\mu\text{mol/L}$ 的皮质酮处理细胞。培养 24 h 后，每孔加入 10 μL CCK-8 工作液，37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h，采用酶标仪测定 490 nm 处的吸光度 (A) 值，计算细胞存活率。

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

2.4 沉香提取物对 PC12 细胞存活率的影响

取对数生长期的 PC12 细胞，以 $4 \times 10^4/\text{mL}$ 接种于 96 孔板中，每孔 100 μL ，培养 24 h。设置空白组、对照组和实验组。空白组不加入细胞，加入完全培养基后不做任何处理；对照组用完全培养基正常培养 PC12 细胞；实验组分别加入 100 μL 终质量浓度为 10、50、100、200 $\mu\text{g/mL}$ 的沉香提取物处理细胞。培养 24 h 后，采用 CCK-8 法检测细胞存活率。

2.5 沉香提取物对皮质酮诱导的 PC12 细胞损伤模型细胞存活率的影响

取对数生长期的 PC12 细胞，以 $4 \times 10^4/\text{mL}$ 接种于 96 孔板中，每孔 100 μL ，培养 24 h。设置空白组、对照组、模型组和给药组。空白组不加入细胞，加入完全培养基后不做任何处理；对照组用完全培养基正常培养 PC12 细胞；模型组和给药组加入终浓度为 400 $\mu\text{mol/L}$ 的皮质酮；给药组再分别加入终质量浓度为 5、10、20 $\mu\text{g/mL}$ 的沉香提取物处理细胞。培养 24 h 后，采用 CCK-8 法检测细胞存活率。

2.6 Hoechst 33258 染色检测细胞凋亡情况

取对数生长期的 PC12 细胞，以 $8 \times 10^4/\text{mL}$ 接种于 6 孔板中，培养过夜。按“2.5”项下方法分组及给药，吸去培养液，加入 0.5 mL 4%多聚甲醛组织固定液，固定 20 min；PBS 溶液洗涤 2 次，加入 0.5 mL Hoechst 33258 染色液，37 $^{\circ}\text{C}$ 避光染色 20 min；PBS 溶液洗涤 2 次，于荧光显微镜下观察各组细胞形态并拍照。

2.7 流式细胞术检测细胞凋亡率

按“2.6”项下方法分组及给药，用 0.125%胰酶消化成单细胞悬液，收集细胞；PBS 溶液洗涤 2 次，1000 r/min 离心 5 min，收集细胞；加入 190 μL 1 $\times$ Binding Buffer 混悬细胞，再加入 5 μL Annexin V-FITC 和 5 μL PI 混匀，避光室温放置 10 min，采用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

2.8 Western blotting 检测细胞凋亡相关蛋白表达

按“2.6”项下方法分组及给药，PBS 溶液洗涤

2 次，于冰上用含蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液裂解细胞，提取蛋白，99 $^{\circ}\text{C}$ 加热 10 min 使蛋白变性。蛋白样品经 10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳，转至 PVDF 膜，于 5%脱脂牛奶中封闭 1 h，分别加入 Caspase-3、PARP、 β -actin 抗体，4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜；TBST 洗涤 3 次，加入 HRP 标记的山羊抗兔抗体，4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 4 h；TBST 洗涤 3 次后显影成像，用 Image J 软件进行灰度分析。

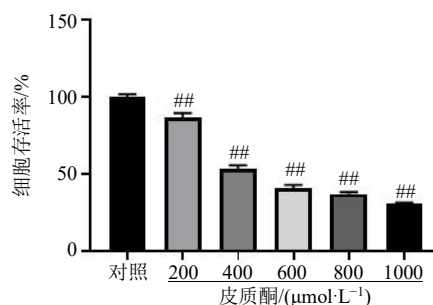
2.9 统计学分析

实验数据采用 Graphpad Prism 8.0 软件进行统计学分析，计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示，两组之间比较采用 t 检验。

3 结果

3.1 皮质酮对 PC12 细胞存活率的影响

如图 1 所示，皮质酮 (200、400、600、800、1000 $\mu\text{mol/L}$) 刺激 PC12 细胞 24 h 后，细胞存活率均显著降低 ($P < 0.01$)，表明皮质酮能抑制 PC12 细胞生长，且呈剂量相关性。400 $\mu\text{mol/L}$ 皮质酮刺激 PC12 细胞 24 h 后，细胞存活率为 50%，因此选择 400 $\mu\text{mol/L}$ 皮质酮刺激 PC12 细胞 24 h 作为神经元细胞损伤模型的实验条件。



与对照组比较：## $P < 0.01$ ，图 2 同

$P < 0.01$ vs control group, same as fig. 2

图 1 皮质酮对 PC12 细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 1 Effect of corticosterone on survival rate of PC12 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

3.2 沉香提取物对 PC12 细胞存活率的影响

如图 2 所示，与对照组相比，沉香提取物 (10、50、100 $\mu\text{g/mL}$) 对 PC12 细胞存活率无显著影响，沉香提取物 (200 $\mu\text{g/mL}$) 组 PC12 细胞存活率显著降低 ($P < 0.01$)。因此后续沉香提取物给药质量浓度控制 100 $\mu\text{g/mL}$ 以内。

3.3 沉香提取物对皮质酮诱导的 PC12 细胞损伤模型细胞存活率的影响

如图 3 所示，与对照组比较，模型组 PC12 细

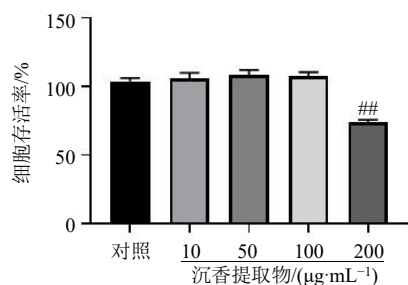
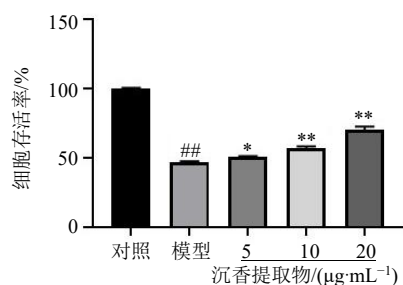


图 2 沉香提取物对 PC12 细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 2 Effect of *Aquilariae Lignum Resinatum* extract on survival rate of PC12 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)



与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$, 下图同

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group, same as below figures

图 3 沉香提取物对皮质酮诱导的 PC12 细胞损伤模型细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 3 Effect of *Aquilariae Lignum Resinatum* extract on survival rate of cells in corticosterone-induced PC12 cells injury model ($\bar{x} \pm s, n=6$)

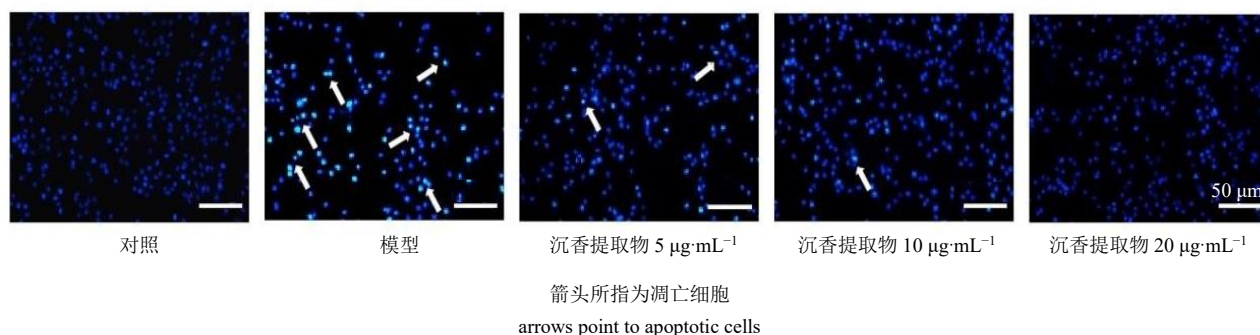


图 4 Hoechst 33258 染色检测细胞凋亡情况

Fig. 4 Cell apoptosis detected by Hoechst 33258 staining

3.5 沉香提取物对皮质酮诱导的 PC12 细胞损伤模型凋亡相关蛋白的影响

当细胞发生凋亡时, Caspase-3 发生剪切变成 cleaved Caspase-3, 同时激活 PARP, 诱导 PARP 蛋白发生剪切化, 因此检测 Caspase-3 和 PARP 以及相应的剪切态的蛋白表达, 进而探究沉香提取物调控 PC12 细胞凋亡的靶点。如图 6 所示, 与对照组

胞存活率显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 沉香提取物组细胞存活率均显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01), 且呈剂量相关性。提示沉香提取物对皮质酮诱导的神经元损伤有良好的保护作用。

3.4 沉香提取物对皮质酮诱导的 PC12 细胞损伤模型细胞凋亡的影响

Hoechst 33258 染色剂是一种核酸染料, 能将凋亡细胞的细胞核标记为亮蓝色荧光。Hoechst 染色结果见图 4, 其中箭头所指向为凋亡细胞, 与对照组对比, 模型组发出亮蓝色荧光的细胞数量明显增多, 表明皮质酮能够导致 PC12 细胞损伤并诱发细胞凋亡; 沉香提取物组发出亮蓝色荧光的细胞数目明显减少, 且呈剂量相关性, 表明沉香提取物能够抑制皮质酮诱导的 PC12 细胞凋亡。

Annexin V-FITC/PI 双染流式细胞术是一种极为灵敏的细胞凋亡检测手段。采用 Annexin V-FITC/PI 双染法对 PC12 细胞进行染色后, 利用流式细胞仪对处于不同阶段的细胞进行分选。结果如图 5 所示, 与对照组相比, 模型组 Q2 象限晚期凋亡和 Q4 象限早期凋亡细胞均明显增加, 细胞凋亡率显著升高 ($P < 0.01$), 表明皮质酮诱导 PC12 细胞凋亡; 与模型组比较, 沉香提取物组 Q2 和 Q4 象限细胞减少, 细胞凋亡率降低, 呈剂量相关性, 其中沉香提取物 (20 μg/mL) 组具有显著性差异 ($P < 0.01$), 表明沉香提取物可通过抑制 PC12 细胞凋亡发挥保护作用。

比较, 模型组细胞 cleaved PARP/PARP 和 cleaved Caspase-3/Caspase-3 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 沉香提取物组细胞 cleaved PARP/PARP 和 cleaved Caspase-3/Caspase-3 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$), 表明沉香提取物可以通过调控 Caspase-3/PARP 抑制 PC12 细胞凋亡, 从而起到细胞保护作用。

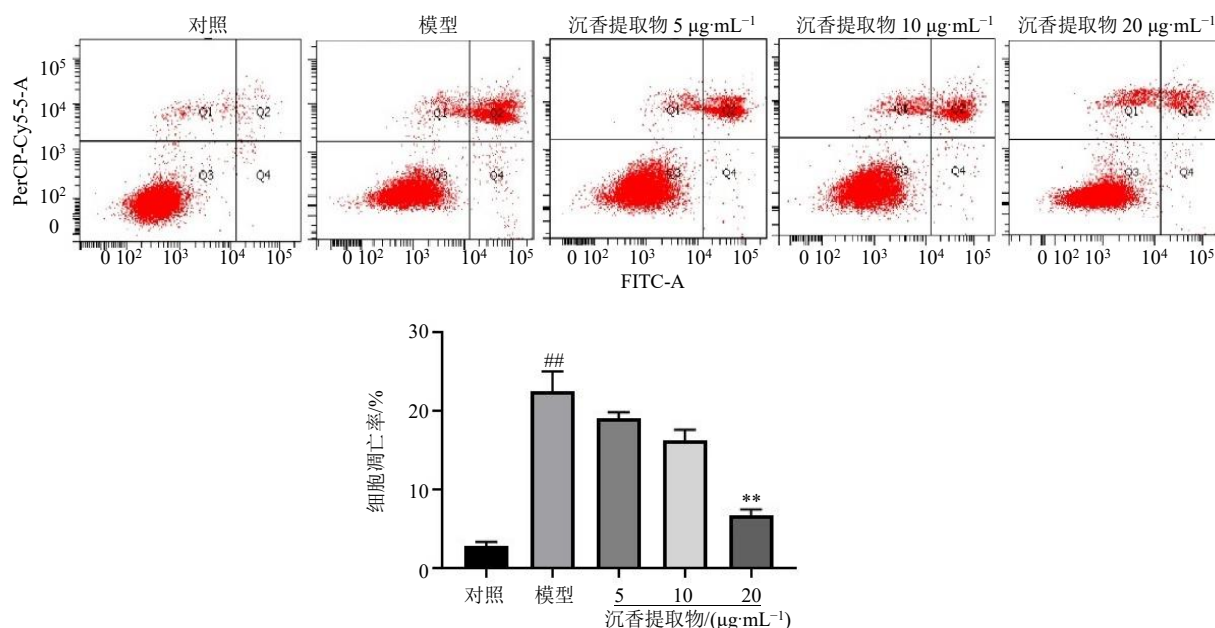


图 5 流式细胞术检测细胞凋亡率 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Cell apoptosis rate detected by flow cytometry ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

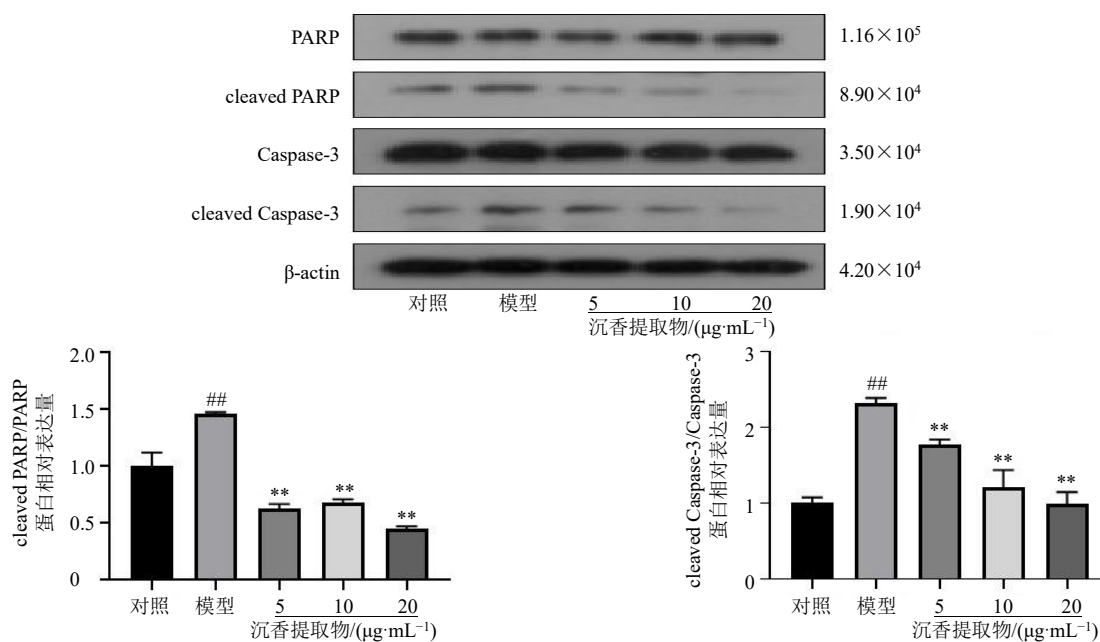


图 6 沉香提取物对皮质酮诱导的 PC12 细胞损伤模型凋亡相关蛋白的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 6 Effect of *Aquilariae Lignum Resinatum* extract on apoptosis related proteins expressions in corticosterone-induced PC12 cells injury model ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

4 讨论

MDD 是一种精神健康障碍,是造成全球疾病负担的主要因素,其特征为普遍且持续的情绪低落,目前已经成为普遍关注的热点^[11]。然而,由于其发病机制不明、致病因素复杂,临床上使用的经典抗抑郁药的疗效并不理想^[12]。苯二氮䓬类药物的长期

使用或联合使用药物可能会导致药物成瘾、嗜睡、运动障碍等严重的不良反应^[13]。因此,寻找长期使用安全且不会造成严重不良反应的天然药物十分必要。中药沉香作为传统的理气药,其化学成分和活性已被广泛报道^[14-15]。Wang 等^[16]通过动物行为实验,证明了沉香挥发油具有抗焦虑和抗抑郁作用;

王灿红等^[17]通过化合物靶点预测发现沉香有抗焦虑和抗抑郁的“双重调节”作用。然而,目前还没有关于沉香对于 GCs 诱导的神经元损伤的神经保护作用及其潜在机制的研究。

本课题组前期研究表明,持续暴露于高浓度 GCs 可抑制神经元生长和分化,导致海马神经细胞 DNA 损伤,最终导致细胞凋亡^[18]。用高浓度的皮质酮诱导 PC12 细胞已被用作模拟神经元损伤的体外经典实验模型。本研究通过不同浓度的皮质酮处理 PC12 细胞建立神经元损伤细胞模型,发现皮质酮显著降低 PC12 细胞存活率,并以剂量相关性方式加剧细胞死亡,故选择 400 $\mu\text{mol/L}$ 皮质酮刺激 PC12 细胞 24 h 作为神经元细胞损伤模型的实验条件。如果能保护神经元免受皮质酮的损伤,慢性应激引起的神经功能障碍可能会减少。因此从神经元细胞保护的角度,探究沉香提取物的抗抑郁作用。通过 CCK-8 法检测 PC12 细胞存活率,发现给予沉香提取物后,细胞存活率呈剂量相关性升高,提示沉香提取物对皮质酮诱导的神经元损伤有良好的保护作用。通过 Hoechst 33258 染色法和流式细胞术检测 PC12 细胞凋亡情况,结果与文献报道一致^[19],皮质酮能够诱导 PC12 细胞的凋亡,沉香提取物可以剂量相关性地抑制皮质酮诱导的 PC12 细胞凋亡。

为了探究沉香提取物抑制皮质酮诱导的 PC12 细胞凋亡的作用机制,考察细胞程序性凋亡途径相关蛋白 Caspase-3/PARP 以及对应剪切态蛋白的表达。Caspase-3 是细胞凋亡的关键执行者,部分或全部负责许多关键蛋白质的蛋白水解裂解。Caspase-3 激活后进一步切割 PARP 并触发染色体 DNA 断裂和片段化,最终导致细胞凋亡^[20]。Western blotting 结果显示,皮质酮处理后能激活 Caspase-3 和 PARP 的剪切,而沉香提取物以剂量相关性方式降低了 cleaved PARP 和 cleaved Caspase-3 的蛋白表达水平。表明皮质酮诱导 PC12 细胞 DNA 片段化并触发细胞凋亡,沉香提取物能有效地抑制细胞凋亡,从而起到细胞保护作用。

综上,本研究发现沉香提取物能够通过调控 Caspase-3/PARP 蛋白,抑制皮质酮诱导的 PC12 细胞凋亡,从而发挥神经保护作用,沉香提取物可以作为一种神经保护剂用于受到皮质酮损伤的神经细胞,为沉香治疗焦虑与抑郁的临床应用提供理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Herzog D P, Wagner S, Engelmann J, *et al.* Early onset of depression and treatment outcome in patients with major depressive disorder [J]. *J Psychiatr Res*, 2021, 139: 150-158.
- [2] Xiong N N, Liu Q, Lv X Z, *et al.* Demographic and psychosocial variables could predict the occurrence of major depressive disorder, but not the severity of depression in patients with first-episode major depressive disorder in China [J]. *J Affect Disord*, 2020, 274: 103-111.
- [3] Santen R J, Jewell C M, Yue W, *et al.* Glucocorticoid receptor mutations and hypersensitivity to endogenous and exogenous glucocorticoids [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2018, 103(10): 3630-3639.
- [4] Sorrells S F, Munhoz C D, Manley N C, *et al.* Glucocorticoids increase excitotoxic injury and inflammation in the hippocampus of adult male rats [J]. *Neuroendocrinology*, 2014, 100(2/3): 129-140.
- [5] Chen Y X, Qin C, Huang J H, *et al.* The role of astrocytes in oxidative stress of central nervous system: A mixed blessing [J]. *Cell Prolif*, 2020, 53(3): e12781.
- [6] Jin W Q, Ma R, Zhai L, *et al.* Ginsenoside Rd attenuates ACTH-induced corticosterone secretion by blocking the MC2R-cAMP/PKA/CREB pathway in Y1 mouse adrenocortical cells [J]. *Life Sci*, 2020, 245: 117337.
- [7] 王灿红, 王帅, 刘洋洋, 等. 通体结香技术产沉香的药效学研究进展及药用开发前景 [J]. *生物资源*, 2021, 43(4): 328-335.
- [8] Hashim Y Z, Kerr P G, Abbas P, *et al.* *Aquilaria* spp. (agarwood) as source of health beneficial compounds: A review of traditional use, phytochemistry and pharmacology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 189: 331-360.
- [9] 霍会霞, 孙慧, 张云封, 等. 中药沉香的药理作用和质量控制研究进展 [J]. *中国医院用药评价与分析*, 2018, 18(2): 152-155.
- [10] 王灿红, 彭德乾, 刘洋洋, 等. 沉香醇提取物对大鼠气滞血瘀心肌缺血的保护作用 [J]. *药物评价研究*, 2019, 42(7): 1279-1285.
- [11] Reppele J, Mauritz M, Meinert S, *et al.* Severity of current depression and remission status are associated with structural connectome alterations in major depressive disorder [J]. *Mol Psychiatry*, 2020, 25(7): 1550-1558.
- [12] Liu S, O'Donnell J, Gladden R M, *et al.* Trends in nonfatal and fatal overdoses involving benzodiazepines- 38 states and the district of Columbia, 2019-2020 [J]. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2021, 70(34): 1136-1141.
- [13] Osler M, Jørgensen M B. Associations of benzodiazepines,

- Z-drugs, and other anxiolytics with subsequent dementia in patients with affective disorders: A nationwide cohort and nested case-control study [J]. *Am J Psychiatry*, 2020, 177(6): 497-505.
- [14] 霍会霞. 沉香的化学成分分析及抗动脉粥样硬化作用机制研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2019.
- [15] Wang S, Yu Z X, Wang C H, *et al*. Chemical constituents and pharmacological activity of agarwood and *Aquilaria* plants [J]. *Molecules*, 2018, 23(2): E342.
- [16] Wang S, Wang C H, Yu Z X, *et al*. Agarwood essential oil ameliorates restrain stress-induced anxiety and depression by inhibiting HPA axis hyperactivity [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(11): E3468.
- [17] 王灿红, 王帅, 彭德乾, 等. 沉香挥发油成分-靶点预测研究 [J]. 中国药理学杂志, 2019, 54(23): 1958-1964.
- [18] Yun H Y, Jeong Y. *Sedum takesimense* protects PC12 cells against corticosterone-induced neurotoxicity by inhibiting neural apoptosis [J]. *Nutrients*, 2020, 12(12): 3713.
- [19] Jin W Q, Xu X H, Chen X N, *et al*. Protective effect of pig brain polypeptides against corticosterone-induced oxidative stress, inflammatory response, and apoptosis in PC12 cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 115: 108890.
- [20] McComb S, Chan P K, Guinot A, *et al*. Efficient apoptosis requires feedback amplification of upstream apoptotic signals by effector caspase-3 or -7 [J]. *Sci Adv*, 2019, 5: 9433.

[责任编辑 李亚楠]